CAB INTERNATIONAL
MYCOLOGICAL INSTITUTE
LIBRARY
28 JAN 1992
FALCK, R.

Mykologische Untersuchungen und Berichte
Von
Dr. Richard Falck.

Beiheft 1.

Über die Sporenkeimung des Champignons.

Neue Untersuchungen zu ihrer Morphologie, Physiologie und Oekologie.

Von
Richard und Olga Falck.

Berichtet von
Dr. Richard Falck,
Professor der technischen Mykologie an der forstlichen Hochschule Han.-Münden.

CENTRAL BUREAU OF MYCOLOGY

Mit 4 Tafeln und 15 Textfiguren.

Kommissionsverlag der Aktiengesellschaft für Druck und Verlag vorm. Gebr. Gotthelft in Cassel.
1924.

Mykologische Untersuchungen und Berichte
Von
Dr. Richard Falck.

Beiheft 1.

Über die Sporenkeimung des Champignons.

Neue Untersuchungen zu ihrer Morphologie, Physiologie und Oekologie.

Von
Richard und Olga Falck.

Berichtet von
Dr. Richard Falck,
Professor der technischen Mykologie an der forstlichen Hochschule Han.-Münden.

Mit 4 Tafeln und 15 Textfiguren.

Kommissionsverlag der Aktiengesellschaft für Druck und Verlag vorm. Gebr. Gotthelft in Cassel.
1924.

Vorwort.

Das Manuskript zu dieser Arbeit ist vor länger als Jahresfrist der Arbeitsgemeinschaft deutscher Naturforscher und Philosophen in Berlin übergeben und der Druck von dieser Stelle in dem vorliegenden Format als besonderes Heft veranlaßt worden.

Münden, Mykologisches Institut der forstlichen Hochschule, im Dezember 1923.

R. Falck.

Inhalt.

A. Historische Einführung 5
I. Die praktischen Ergebnisse der Franzosen 5
II. Die exakten Versuche der Amerikaner 9
III. Die bisherigen Hypothesen 12

B. Prüfung der Hypothesen : 13
IV. Über Art und Einfluß der heißen Düngerrotte 13
V. Der Einfluß der Verdauungssäfte bei den Pflanzenfressern . . 15
VI. Über den Einfluß arteigener Mycelien 17
VII. Die Richtlinien der eignen Versuche und die in der vorliegenden Arbeit vertretene neue Arbeitshypothese 18

C. Experimentelle Versuche zur Begründung der neuen Hypothese 21
VIII. Methodisches 21
IX. Über den Sporenwurf stehender und abgeschnittener Hüte . . 21
X. Die Keimversuche 24
1. Versuchsreihe K 1 24
2. Versuchsreihe K 2 24
3. Versuchsreihe (A) und Versuche aus Tabelle 6 der Arbeiten von Marg. Ferguson 28
4. Versuchsreihe (B) 30
5. Versuchsreihe (C) 31
6. Versuchsreihe (D) 31
7. Versuchsreihe (E) 32
8. Versuchsreihe (10) 33
9. Versuchsreihe (10b) 34
10. Versuchsreihe (11) 35
XI. Über die Fortentwicklung des Keimmycels im hängenden Tropfen 36

D. Charaktere der Keimung 43
XII. Zur Morphologie der Keimung 43
a) Schlauchkeimung 47
b) Blasenkeimung 48
c) Stäbchenkeimung 49
d) Amöbenkeimung 49
e) Zwergkeimung 46
XIII. Zur Physiologie der Keimung 50
1. Der Einfluß der Nährlösung 50
2. Keimdauer 50
3. Einfluß organischer Säuren 53
XIV. Zur Biologie der Keimung 55

Alle Rechte vorbehalten.
Copyright by
Aktiengesellschaft für Druck und Verlag
vorm. Gebr. Gotthelft in Cassel.

Druck von G. Reichardt, Groitzsch (Bez. Leipzig).

A. Historische Einführung.

I. Die praktischen Ergebnisse der Franzosen.

Die frühesten und weitreichendsten Erfahrungen und Erfolge in der Champignonkultur haben die Franzosen; demzufolge haben sie sich zuerst mit der methodischen Zucht dieses Pilzes aus den Sporen befaßt. Es ist aber sicher, daß Chevreul[1]) und andere, die sich um den Ausbau der jetzigen Rohkulturmethode verdient gemacht haben, mit der Sporenzucht höchstens unsichere und wechselnde Erfolge hatten. Erst die französischen Mykologen Costantin und Matruchot, und unabhängig davon auch Répin, haben sich im Institut Pasteur in Paris mit der Keimung der Sporen und der Herstellung von Reinkulturen auf dieser Grundlage beschäftigt. Angeregt und gestützt durch die wachsende wirtschaftliche Bedeutung der Champignonkultur in ihrem Lande, haben Costantin und Matruchot in der Zusammenarbeit mit dem erfahrenen Züchter Tellier ein Verfahren zur Herstellung von Reinkulturen — angeblich aus Sporen — ausgebildet. Unter der Leitung Telliers wurde sodann ein selbständiges kaufmännisch betriebenes Institut, das „Service de Blancs de Champignons (Anciennement a l'Institut Pasteur)" in Paris (Rue de Crimée 84) begründet.

Das Institut empfiehlt sowohl die Reinkulturbrut (Blanc sterilisé) als auch Rohbrut (Blanc normal), die aus der Reinkulturbrut herangezogen wird. Jahrzehntelang hat das Institut Tellier die meisten Brutzüchter und die größeren Champignonzüchtereien in Deutschland und anderen Kulturstaaten mit der Reinkulturbrut versorgt. Andererseits benutzen viele und größere Züchtereien besonders in Frankreich nach wie vor die sog. natürliche Erstlingsbrut, die nach der alten Gewohnheit in der Natur gesucht und als Ausgangsmaterial den Reinkulturen vorgezogen wird.

Ich beziehe mich hierfür auf die Mitteilungen von vier kriegsgefangenen französischen Züchtern aus verschiedenen Züchtereigebieten Frankreichs, die eine Zeitlang während des Krieges im Mykologischen Institut Champignonkulturen anlegten. Die großen Züchtereien haben dort Leute, die dauernd auf der Brutsuche in Ställen und im Freien unterwegs sind. Ich habe mich hier auch davon überzeugt, daß diese Brutsucher nicht

[1]) Chevreul 1861 Compt. Rendus des Seances de l'Acad. des Sience 53 1871.

nur eine erstaunliche Findigkeit haben, sondern auch imstande sind, selbst im Walde Champignonmycel von dem anderer Hutpilze habituell zu unterscheiden. Der wichtigste Fundort sind Pferdeställe, in denen der strohreiche Dünger wenigstens einige Monate lang unter den Pferden liegen bleibt. An geschützten Stellen (unter den Krippen) pflegen sich dann so große und kräftige Entwicklungsherde auszubilden, daß größere Brutmengen entnommen werden können.

Als Substrat für die Reinkulturen (Blanc sterilisé) dient halb verrotteter strohreicher Dünger, der kunstgerecht in runde Gläser gestopft, sterilisiert (?) und geimpft wird und dann vollständig von den wuchskräftigen weißen Mycelien durchsponnen wird. Die bald nach der Durchwachsung aus den Gläsern herausgezogene Kultur wird entweder frisch oder schwach getrocknet unter dem Namen „Kartusche“ in den Handel gebracht.

Das Verfahren der Herstellung der Kartuschen und der Art ihrer Impfung wird geheim gehalten. Zwar gibt das Institut eine besondere Zeitschrift heraus, in der die genannten Professoren und die Praktiker über wissenschaftliche und praktische Fragen der französischen Champignonkultur berichten, doch enthalten die bisher erschienenen Publikationen über die Sporenkeimung und die Anzucht der Kartuschen nur spärliche und ganz unvollständige Angaben, die keinen Einblick in die Arbeitsmethode gestatten. Soweit diese Angaben reichen, sollen sie hier zunächst berichtet und besprochen werden.

Die in 12 Monatsheften erscheinende Tellier-Zeitschrift hat den Titel: „La Culture des Champignons comestibles“, erscheint seit dem Jahre 1907; Herausgeber und Leiter ist das Service des Blancs de Champignon. (Tellier.)

Schon in der vierten Nummer des ersten Jahrganges (1907) ist eine Abhandlung des Prof. Matruchot über die Keimung der Sporen erschienen, in der folgendes ausgeführt wird: Es sind enge Bedingungen

„der Ernährung,
der Feuchtigkeit
und der Temperatur“

erforderlich; wenn diese erfüllt sind, tritt die Keimung der Sporen immer ein, wenn die Aussaat nicht zu alt ist und wenn sie gesund bleibt. Die obigen Bedingungen werden dann näher erläutert:

a) Zur Ernährung ist Dünger von Pflanzenfressern erforderlich, in erster Linie kommt Pferdedünger in Betracht.

b) Die geeignete Feuchtigkeit ist diejenige, die sich unter natürlichen Verhältnissen im Düngerhaufen findet, mit Ausnahme der obersten Schichten.

c) Die günstige Temperatur befindet sich nicht in denjenigen Teilen des Düngerhaufens, die bei der Fermentation hohen Temperaturen (bis 80° C. und darüber) ausgesetzt sind. Nur an gewissen Stellen in unteren und oberen Teilen des Düngerhaufens steigt die Temperatur bis zu den Graden der milden Wärme, die für Keimungen nötig ist.

d) Auch die partielle Sterilisation, die der Dünger bei der Erwärmung erfährt, ist nicht ohne günstigen Einfluß auf die Keimung.

Aus diesen Gründen erscheine das Mycel des Champignons in der Natur spontan überall dort, wo sich verlassene Düngerstätten befänden. Die Sporen gelangen in den Dünger mit dem Futtermaterial, nachdem sie den Verdauungsapparat der Tiere passiert haben. Sie bleiben dabei keimfähig und werden von den Verdauungssäften nicht angegriffen. Im Dünger sammeln sich die Sporen also gewissermaßen an, und wenn die obigen Bedingungen sich einstellen, dann könne mit Sicherheit auf das Erscheinen des Champignonmycels gerechnet werden.

Matruchot bezieht sich in dieser Abhandlung bezüglich der von ihm in Laboratoriumsversuchen entdeckten Methode der Sporenkeimung auf seine und Constantins Veröffentlichungen in mehreren gelehrten Gesellschaften, besonders in der Akademie der Wissenschaften. Es war zu erwarten, daß man hier wenigstens eine Beschreibung der Methode würde finden können. In den Compt. Rend. de l'Acad. des Sciences vom Jahre 1903 finden sich Mitteilungen unter dem Titel: Constantin u. Matruchot, Nouveau procédé de culture de champignon de couche. Die hier enthaltenen Angaben sind (zitiert nach Duggar) die folgenden: „Die Sporen werden frei von Verunreinigungen gesammelt und, um sie rein zu erhalten, ausgesät auf sterilisierte Nährböden. Wir bekommen auf diese Weise ein verzweigtes Mycelium, welches reine Brut liefert. Durch Abimpfen auf ähnliche Nährböden kann die Brut beliebig vermehrt werden und wird zu einer geeigneten Zeit auf sterilisierten Dünger gebracht, wo sie in einigen Wochen sich stark entwickelt. In diesem Stadium besitzt sie das charakteristische Aussehen und den Geruch von natürlicher Brut. Sie kann dann gespickt werden in ein Beet von gewöhnlichem Dünger, welchen sie durchwächst und wo sie auf normale Weise fruchtet."

Im Jahre 1897 hat auch der französische Forscher Dr. Repin, ebenfalls Mitarbeiter am Institut Pasteur, eine Abhandlung über

die Kultur des Champignons veröffentlicht (Revue generale des Sciences; Bd. 8, Jahrgang 1897, S. 706), in der er angibt, daß es ihm unabhängig von Costantin und Matruchot gelungen ist, die Frage der Sporenkeimung zu lösen und zu Reinkulturen derselben Art zu gelangen. Über die Keimungs-Methode äußert sich Répin wörtlich wie folgt:

„Es gibt kein Geheimnis mehr in der Frage der Sporenkeimung des Champignons. Man kann sie in beliebigen Nährlösungen erhalten, die in der Bakteriologie üblich sind, auf nassem Sand oder einfach in feuchter Luft ebensogut wie auf Dünger. Zweifellos wird diese Keimung nicht so leicht und so schnell erreicht wie bei den Sporen der niedrigen Pilze. Es ist nötig, sie durch einige Kunstgriffe anzureizen, aber das sind nur Handgriffe (ce ne sont que des tours de main), die verschieden sind, je nach der Person des Züchters (variables suivant des operateurs) und die man erwirbt nach einigen erfolglosen Versuchen (qui s'acquièrent après quelques essais unfructueux).

Repin gibt an, daß die Sporen, welche keimen (qui doivent germer), erst anschwellen (commencent par se gonfler) und eine hellere Farbe annehmen. Darauf senden sie von ihren Polen einen feinen Keimschlauch.

Auch Matruchot macht in seiner zuerst genannten Arbeit Angaben über die Art, wie die Sporenkeimung erfolgt: „Wenn die Spore zu keimen beginnt, rundet sie sich ab (s'arrondit), stößt einen Keimling aus und verlängert sich zu einem farblosen Schlauch, der von Abstand zu Abstand Scheidewände erhält." Abrunden setzt ein Anschwellen voraus; diese Angabe deckt sich also vollständig mit Répins Beschreibung.

Aus den folgenden in dieser Arbeit veröffentlichten Beobachtungen über die Sporenkeimung des Champignons ergibt sich aber, daß die Sporen bei der Keimung unter verschiedenen Bedingungen sich weder abrunden noch anschwellen, sondern ihre Gestalt unverändert beibehalten; auch ist festgestellt worden, daß die Keimschläuche durchaus nicht regelmäßig an den Polen der Sporen, sondern an beliebigen Stellen austreten. Die kurzen Mitteilungen der französischen Forscher über den Keimungsprozeß lassen es also zweifelhaft erscheinen, ob dieselben ihre Kulturen unter exakter mikroskopischer Kontrolle ausführten, sondern weisen darauf hin, daß sie mehr empirisch mit größeren Kulturen gearbeitet haben, an denen sich das Auftreten des Champignonmycels dann makroskopisch beobachten läßt.

II. Die exakten Versuche der Amerikaner.

In Deutschland sind Sporenkeimungen des Champignons wiederholt versucht, aber noch nicht Gegenstand einer ausführlichen Bearbeitung gewesen. Brefeld hat mir selbst mitgeteilt, daß er die Keimung von Champignonsporen beobachtet habe. In dem Lehrbuch der Botanik von Prof. Dr. Otto Schmeil (Verlag Quelle & Meyer) ist eine keimende Spore des Champignons neben einigen ungekeimten Sporen richtig abgebildet. Nach einer freundlichen Mitteilung des Verfassers stammt dieses Bild von dem verstorbenen Prof. Kohl in Marburg, der es nach einem von ihm kultivierten Präparat gezeichnet haben soll.

Die ersten genaueren Mitteilungen über methodische Sporenkeimungsversuche des Champignons auf Grund mikroskopischer Beobachtungen verdanken wir den amerikanischen Forschern Duggar[1]) und Ferguson[2]).

Im Jahre 1901 hatte Duggar (Professor an der Universität Missouri) Studien über die Sporenkeimung von Pilzen veröffentlicht, in denen auch einige Mitteilungen über die Keimung der Champignonsporen enthalten sind[1]).

Duggar geht im Beginn von der Vorstellung aus, daß diese Sporen erst keimen, wenn sie den Verdauungsapparat pflanzenfressender Tiere passiert haben. Er stützt sich dabei auf die Feststellung von Janczewski (1871),[3]) daß die Sporen von Ascobolus furfuraceus, eines häufigen Düngerbewohners, erst keimen, nachdem sie von Kaninchen zugleich mit dem Futter gefressen waren.

Duggar versuchte den Verdauungssaft künstlich auf die Sporen einwirken zu lassen und benutzte zur Keimung von Sporen 0,5 % und 0,1 % Lösungen von Pepsin in destilliertem Wasser, kombiniert mit Salzsäure in Verdünnungen von 0,01, 0,001 und 0,0001 N. Wenige Tropfen von jeder Flüssigkeit wurden in Flaschen gebracht, die Sporen zugefügt und nach Versiegelung in den Thermostaten gebracht. Nach 24 Stunden, 3 Tagen und 7 Tagen wurden jedesmal einige Sporen in folgende Flüssigkeiten gebracht: destilliertes Wasser, Mistdekokt, Coprinusdekokt und Bohnenschotendekokt. Dauer der Kultur 8 Tage. Alle Kulturen von Champignonsporen ergaben geringe

---

[1]) Physiological Studies with Reference of the Germination of Certain Fungous Spores Bot. Gaz. 31 38–66). 1901.

[2]) A preliminary Study of the Germination of the Spores of Agaricus Campestris and other Basidiomycetous Fungi (U. S. Departement of Agriculture, Bureau of Plant Industry-Bulletin No. 16-Washington, Goverment Printing Office, 1902).

[3]) Morpholog. Untersuchg. über Ascob. fur. Bot. Ztg. 29.

Keimungsprozente; in destilliertem Wasser keine Keimung. In Coprinusdekokt in einem Fall 25 % Keimungen. Vorbehandelt waren diese Sporen mit 0,0001 normal Salzsäure und 1 % Pepsin 7 Tage lang und dann im hängenden Tropfen beobachtet. Die Resultate waren aber im allgemeinen höchst ungleich, ohne daß es möglich war, die Bedingungen hierfür aufzuklären.

Dr. Margarethe Ferguson knüpfte an diese Versuche an. Außer Salzsäure und Pepsin wurden Äpfel-, Milch- und Hippursäure in verschiedenen Prozenten der Nährlösung (Düngerextrakt) zugesetzt. In Milchsäure trat niemals Keimung ein; in anderen Säuren einige wenige; 15 % wurde in keinem Fall überschritten. Die Versuche verliefen auch negativ, wenn die Sporen, welche in den Säuren nicht gekeimt hatten, in schwach alkalische Dekokte übertragen wurden. Die Verfasserin bestätigt daher die frühere Angabe von Hoffmann (1860),[1]) daß schwache Säuren die Sporen von Basidiomyceten nicht zum Keimen reizen.

Es wurden tausende von Versuchen auch über den Einfluß der Alkalien, des Lichtes, des Alters usw. durchgeführt, es zeigte sich aber, daß bei Benutzung der üblichen Nährböden und Reizmittel nur vereinzelte Keimungen stattfanden. Nach Duggar war „die Arbeit schließlich erfolgreich durch die neue Feststellung, daß ein hoher Prozentsatz von Keimungen erreicht wurde durch den Einfluß von lebenden Hyphen des Champignons auf die Sporen".

In der Arbeit von Ferguson heißt es wörtlich: „wenn wenige Sporen im Stande sind zu keimen unter Voraussetzung der kulturellen Bedingungen, oder wenn ein Stückchen Mycelium von Agar. camp. in die Kulturen gebracht wird, dann wird das entstandene Wachstum in jedem Falle die Keimung von fast allen Sporen in der Kultur möglich machen oder gar anregen, vorausgesetzt natürlich, daß die übrigen Bedingungen nicht solche sind, die diese Keimungen verhindern könnten".

War kein Mycelium anwesend, so keimten nur wenige Sporen. In einigen Kulturen erst nach 240 Stunden, wobei vollständige Keimung erst nach 384 Stunden auftrat. Bei Anwesenheit des Myceliums wurde dagegen schon nach 144 Stunden vollständige Keimung erreicht. Nach Ferguson wirkte das Mycelium hier also als Reizmittel und es scheine, daß vom Mycel ein Stoff abgeschieden wird, der die Aussendung von Keimschläuchen anregt. Wachsendes Mycel anderer Pilze hatte

[1]) Hoffmann, H., Untersuch. über die Kmg. von Pilzsporen. Jahrb. f. Wissenschaftl. Botanik 2. S. 267. 1860.

keinen Erfolg. Die unter dem Einfluß des Champignonmycels keimenden Schläuche sind kurz, dick und fast rund im Umriß, ein weiteres Wachstum erfolgte aber erst, wenn die Sporen in frische Nährlösung übertragen wurden.

„Es ist niemals vorgekommen, daß in einer Kultur von vornherein gleich 40 % keimen und dann die übrigen allmählich folgen. Erst wenn die Schläuche von wenigen Sporen sich entwickelt haben, beginnen 5—10 Tage nach der erst erfolgten Keimung alle übrigen Sporen zu keimen, wenn auch nicht ganz gleichzeitig. Sie bilden kurze Schläuche, die nicht weiter können. Es kommt vor, daß eine Spore außerhalb größerer Sporenhaufen keimte. Sobald der Schlauch den Haufen erreicht, fingen alle anderen, wie durch einen Zauberschlag, zu keimen an."

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse nimmt die Autorin an, daß die Einwirkung der eigenen Mycelien des Champignons den wesentlichsten Reiz für die Sporenkeimung abgibt.

Duggar äußert sich in einer ein Jahr später erschienenen Arbeit über diese Entdeckung von Ferguson: „Sie bedeutet zwar einen bestimmten Fortschritt in unseren Kenntnissen über die Faktoren, welche die Keimung beeinflussen, jedoch scheint es nicht möglich, daß so etwas in der Natur vorkommen könnte, auch kann es aus praktischen Gesichtspunkten nicht als befriedigend angesehen werden. Die Resultate von M. Ferguson sind ermutigend; nichtsdestoweniger bleiben die Probleme über den Champignon und Verwandte offen für weitere Untersuchungen."

In dieser im Jahre 1905 veröffentlichten Abhandlung über die Prinzipien der Pilzzüchtung und Pilzerzeugung (The Prinziples of Mushroom Growing and Mushroom spawn making U. D. Depart. of Agricult. Bulletin No. 85Washington Governement print. office) hat Duggar über weitere eigne Untersuchungen über die Sporenkeimung des Champignons, die er im Anschluß an die Arbeit von Ferguson wieder aufgenommen hat, folgendes mitgeteilt: „Ich habe die Versuche von Ferguson nachgeprüft und arbeitete mit destilliertem Wasser, Pflanzendekokten, Bouillon, sowie mit einer großen Anzahl anorganischer und organischer Salze.

Einigen Einfluß hatten Dulcit, einbasisches Magnesiumphosphat, Magnesiumphosphit, Mg - K - Ammonium - Phosphat, Amm. molybdat, Magnesium laktophosphat, zweibasisches Calciumphosphat u. a. m. Keine von diesen Substanzen sind aber starke Reizmittel. Auch wurden unter denselben Bedingungen nicht immer dieselben Prozentsätze an Keimungen erhalten.

Jedoch wurden etwaige Varietäten des Agaricus nicht beachtet und es mag sein, daß das Einfluß hatte."

Die Methode von Ferguson wurde dahin abgeändert, daß aus dem inneren Gewebe eines jungen Pilzes etwas Gewebe herausgenommen und unter sterilen Bedingungen zugesetzt wurde. Es zeigt sich, daß oft neues Wachstum von diesem Gewebe ausging. Der Einfluß auf die Sporen in der Tröpfchenkultur war ähnlich demjenigen des lebenden Mycels. Oft keimten einige Sporen in 3—5 Tagen. Das interessanteste Ergebnis war folgendes: „Unter günstigen Bedingungen ist ein kleines Stück des inneren Gewebes eines Pilzes im Stande, Mycel mit großer Geschwindigkeit zu produzieren. Diese Tatsache ist später dazu benutzt worden, eine neue Methode auszuarbeiten, um Reinkulturen von fleischigen Pilzen im allgemeinen herzustellen." [1])

Damit scheint Duggar die Angaben Fergusons zu bestätigen.

„Es hat sich herausgestellt, daß die beste Methode, Sporen für Keimungsversuche zu gewinnen, darin besteht, einen möglichst jungen Pilz zu nehmen. Man nimmt den Pilz gerade, nachdem das Velum geborsten ist, und entnimmt mit einer sterilen Nadel einige Sporen dem Sporenträger und überträgt sie in derselben Weise als die Mycelstückchen."

Diese Methode kann bei größerem Sporengebrauch nicht empfohlen werden. Wir benutzten stets die selbsttätig geworfenen Sporen des Pilzes.

Es wurden von Duggar auch Versuche angestellt mit Töpfen mit unsterilisiertem Dünger oder Kompost, welche einerseits mit Sporen geimpft wurden und andererseits mit Brut aus Reinkulturen als Kontrolle. Dauer des Versuchs zwei Monate. „Einige von diesen Töpfen wurden mit mineralischen Nährlösungen begossen, worin hauptsächlich Magn. phosphat, andere mit derselben Nährlösung, worin eine geringe Menge getrocknetes Blut enthalten war, schließlich einige mit reinem Wasser. Das Resultat war im allgemeinen nur mäßig."

III. Die bisherigen Hypothesen.

Für die Behandlung der Sporenkeimungsfrage kommen hiernach bislang 3 Arbeitshypothesen in Betracht, auf die wir im folgenden Abschnitt näher eingehen müssen.

---

[1]) Auf demselben Wege sind Reinkulturen des Pilzes schon früher von uns hergestellt worden.

1. Die Hypothese Costantin und Matruchot. Die Bedingungen der Sporenkeimung liegen im oder am gärenden Düngerhaufen. Diese Gärung verläuft unter erheblicher Temperaturerhöhung (bis 90° C.) bei vorwiegend alkalischer (ammoniakalischer) oder neutraler Reaktion. Ihre Erreger und Begleiter sind größtenteils thermophile Bakterien. Versuche zum Beweis dieser Hypothese wurden noch nicht mitgeteilt.
2. Die Hypothese von Duggar. Die Keimung der Sporen wird durch den Verdauungsprozeß angeregt. Künstliche Verdauungsversuche, welche die Hypothese stützen sollten, sind jedoch negativ ausgefallen, so daß Duggar die Hypothese wieder fallen ließ.
3. Die Hypothese von Ferguson. Durch Versuche wurde festgestellt, daß der Anreiz für die Keimung vom Champignonmycel selbst ausgeht. Dies wird als ein neuer Faktor der Sporenkeimung bezeichnet, ohne Erörterung der biologischen Verhältnisse.

B. Die Prüfung der Hypothesen.

IV. Über Art und Einfluß der heißen Düngerrotte.

Wenn die erste Hypothese richtig wäre, daß die heiße Haufenrotte des Düngers, die ein für das Wachstum des Champignon-Mycels brauchbares Substrat erzeugt, zugleich die natürlichen Reizstoffe für die Sporenkeimung des Champignons ergäbe, dann müßten wässrige Auszüge dieses Düngers die Keimprozesse auslösen. Tatsächlich sind solche Auszüge in dieser Annahme auch von den bisherigen Beobachtern in erster Linie verwendet worden. Duggar und Ferguson hatten kunstgerecht verrotteten Dünger ebenso wie ich selbst aus eigener Züchterei zur Verfügung. Sie haben aber ebenso wenig wie ich beobachten können, daß solche Auszüge, seien sie kalt oder warm hergestellt, konzentriert oder verdünnt verwendet, die Keimung gegenüber anderen neutralen Flüssigkeiten beeinflussen. Daraus erhellt schon, daß nicht flüchtige chemische Substanzen, welche die Keimung auslösen oder begünstigen könnten, bei der heißen Verrottung des Düngers nicht gebildet werden. Es kämen aber vielleicht die gasförmigen Produkte in Betracht, die bei diesem Gärprozeß in erheblichen Mengen gebildet werden.

Die Franzosen nehmen an, soweit dies aus ihren Publikationen ersichtlich ist, daß es sich bei der heißen Düngerrotte um einen der Sumpfgas-Gärung (fermentation forménique) entsprechenden Vorgang handelt. Répin sagt darüber in seiner oben zitierten Arbeit wörtlich folgendes: „Man weiß von den Arbeiten

von Déherain, Gayon, Schlössing und anderen, daß die Umsetzungen, die in dem Dünger vorsichgehen, zweierlei Art sind: die einen sind bedingt durch Mikroben-Fermentation, die anderen durch chemische Verbrennung, die niemals mangelt, wenn cellulosehaltiges Material in einem Zustand von guter Durchfeuchtung in großen Haufen vereinigt wird. Schlössing, der gleichzeitig mit sterilisiertem und unsterilisiertem Material arbeitete, hat den Anteil bestimmt, der jedem der beiden Phänomene zukommt unter den gewöhnlichen Bedingungen der Düngerverarbeitung bei der Düngerrotte. Er hat gezeigt, daß die Mikroben zuerst die saure Fermentation der löslichen Stoffe herbeiführten, daß sodann vom dritten Tage an die Sumpfgas-Gährung der Cellulose (fermentation formenique) vorherrscht und solange verbleibt, bis die Temperatur noch nicht die Höhe von 80° C erreicht hat. Bei 80° C hört sowohl die eine wie die andere auf, sie überlassen das Feld der chemischen Verbrennung, deren Intensität im Gegensatz zur Mikroben-Fermentation mit steigender Temperatur zunimmt."

Um die Art der Gärung zu beurteilen, habe ich meinen Schüler Dr. Kobayashi aus Japan veranlaßt, die bei der Düngergärung entstehenden Gase aufzufangen und zu untersuchen.

Es wurden am 3. Mai ein kleinerer Haufen etwa 1 m hoch und 1,5 m im Quadrat angelegt, in dem die Innentemperatur während der Gärung 75° C nicht überstieg und die rein chemische Verrottung jedenfalls nicht zur Vorherrschung kam. In dem Düngerhaufen wurde ein glockenförmiges Blechgefäß oben mit Abzugsrohr eingebaut und das im Innern des Haufens befindliche Gasgemisch zu verschiedenen Zeiten, zuerst am dritten Tage, an dem die Sumpfgasgärung bereits vorherrschen soll, abgesaugt.

Am 6. Mai wurden 92,8 ccm Gas entnommen, darin ist enthalten:
Kohlensäure 4,1%
Sauerstoff 18,1%
Methan und Wasserstoff waren nicht nachweisbar.

Am 7. Mai wurden 77,9 ccm entnommen, darin sind enthalten:
Kohlensäure 5%
Sauerstoff 15,5%
Kein Methan und kein Wasserstoff.

Am 9. Mai wurden 97 ccm entnommen, diese enthalten:
Kohlensäure 4,9%
Sauerstoff 15,2%
Kein Methan und kein Wasserstoff.

Am 9. Mai wurde der Haufen zum ersten Mal umgesetzt.

Am 13. Mai wurden 99 ccm abgesaugt, diese enthielten:
Kohlensäure 1,82%
Sauerstoff 17,4%
Kein Wasserstoff (nach Pallad. Methode untersucht).
Kein Methan (glühende Platindraht-Methode).
Der Wassergehalt des Düngens betrug am 3. Mai 57,93%, vor dem ersten Umsetzen am 9. Mai 42,07%.

Die Zahlen zeigen, daß eine Methan-Gärung bei der Düngervergärung überhaupt nicht in Frage kommt. Es wird neben etwas freiwerdendem Ammoniak nur Kohlensäure gebildet und zwar auf Kosten des Sauerstoffgehaltes. Schon am dritten Tage enthält die Luft des Düngerhaufens 4,1%, nach vier Tagen 5% Kohlensäure. Nach dem ersten Umsetzen sinkt der Kohlensäuregehalt auf 1,82%, um dann aber wieder anzusteigen. Die Abnahme ist auch auf die erhebliche Wasserzufuhr beim Umsetzen zurückzuführen, da der Wassergehalt von 42,07 auf 56,4% erhöht wurde. Der benutzte Dünger enthielt etwa 51% Pferdekot und 49% Stroh-Streuung.

Die Wirkung der Kohlensäure auf die Keimung der Champignonsporen ist daher besonders geprüft worden, hat aber nur negative Erfolge gegeben. Daraus glaube ich schließen zu können, daß auch die gasförmigen Produkte der heißen Düngerrotte die Keimung der Champignonsporen nicht günstig beeinflussen können. Soweit der Dünger dieser heißen Gärung überhaupt unterliegt — und es sollen bei richtiger Leitung des Prozesses bei den Umsetzungen alle Teile desselben abwechselnd in das heiße Innere des Haufens hineingelangen — werden die Sporen des Champignons durch die tagelang wirkende Hitze ebenso sicher abgetötet wie die große Zahl der übrigen Pilzsporen überhaupt. Es ist auch nicht beobachtet worden, daß auf so präpariertem Dünger, wenn er nicht mit Mycelbrut geimpft wird, der Champignon spontan entsteht.

Die Hypothese der Franzosen, daß der im Haufen befindliche und gärende Dünger (le tas de fumier) die Keimung der Champignonsporen in gewissen Teilen des Haufens begünstigen (oder auch nur ermöglichen?) könnte, kann nicht aufrecht erhalten werden.

V. Der Einfluß der Verdauungssäfte im Magen der Pflanzenfresser auf die Sporenkeimung.

Die 2. Hypothese, von der Duggar und Ferguson bei ihren Versuchen ausgegangen sind, ist sehr naheliegend. Auch Matruchot nimmt an, daß die Sporen, welche die Brut im Dünger erzeugen, den Verdauungsapparat passiert haben, doch

sagt er, soweit mir bekannt ist, nichts aus über eine Beeinflussung ihrer Keimfähigkeit. Schon Brefeld hat mitgeteilt, daß Ascoboleensporen erst keimen, wenn sie den Tiermagen passiert haben. Brefeld wußte auch schon, daß es hierbei auf eine Einwirkung der höheren Temperatur (38° C) im Tierkörper wesentlich mitankommt. Ich habe in Brefeld's Laboratorium die Sporen dieser Formen einfach dadurch mit Sicherheit zum Keimen gebracht, daß ich dieselben in frisch sterilisierte ganze Pferdeäpfel durch Einstisch mit der Impfnadel einbrachte, als sich die 4—5 Äpfel enthaltende Glasschalenkultur etwa bis auf 60° C abgekühlt hatte. Die Sporen keimten unmittelbar nach der Wärmereizung ohne zeitliche Hemmung, und ich erhielt dann in der Regel die Reinkultur der betreffenden Ascobolus-Art. Ebenso behandelte Champignon-Sporen zeigten keine Keimungen. Es ist hierbei zu berücksichtigen, daß die Ascoboleensporen erheblich größer sind und stärker inkrustierte (geschützte) Wände haben. Ich selbst habe vor etwa 15 Jahren, von demselben Gedanken ausgehend, die Sporen des Champignons in künstlichem Magensaft bei 38° C behandelt, ohne Erfolge zu erzielen. Sporen, die einen Tag bei 38° C in einer Nährlösung bleiben, haben ihre Keimfähigkeit noch nicht eingebüßt. Die Keimung von Champignonsporen, welche den Tierleib passiert haben, ist aber noch nicht beobachtet, so daß man zur Zeit noch nicht weiß, ob die Sporen Schaden leiden, oder unverändert bleiben, oder günstig beeinflußt werden. Die exakte Durchführung dieser Versuche erfordert größere Hilfsmittel, als sie mir zur Verfügung stehen. Es ist hierbei auch zu berücksichtigen, daß es keineswegs feststeht, ob die Sporen, aus denen die Pilzbrut im richtiglagernden Dünger sich entwickelt, den Tierleib passiert haben. Denn der Stalldünger besteht nicht bloß aus dem Kot der Tiere, sondern zu etwa 50% aus der Stallstreu (vorzugsweise Stroh), die ebensogut Sporenbesatz trägt. Bei der außerhalb des Stalles im Freien gebildeten Brut ist die Herkunft der Sporen erst recht zweifelhaft. Sehr oft beobachtet man Champignons auf Wiesen, auf Lohe und an anderen Stellen, wo tierischer Dünger nicht in Frage kommt.

Duggar, ebenso Ferguson, haben die Sporen mit Pepsin und Salzsäure behandelt (vermutlich bei 38° C), ohne einen positiven Erfolg zu haben. Nun kommt aber in Betracht, daß im Pferdemagen die Milchsäurebildung die anderer Säuren erheblich übersteigt. Die Milchsäurebakterien bemächtigen sich hier sehr bald des durch Amylasen aus Stärke im Magen gebildeten Zuckers und verzehren denselben schnell und vollständig. Infolgedessen wird die Reaktion des Vormageninhalts schon

ca. 1 Stunde nach Beginn der Verdauung sauer und der Säuregrad erreicht bald 1% und mehr. Bemerkenswert ist, daß die amylolystischen Fermente auch bei saurer Reaktion in Wirksamkeit bleiben und dadurch die Fortdauer der Milchsäuregärung ermöglichen.

Die Eiweißverdauung verläuft dagegen im Magen des Pferdes in ganz anderer Weise, wie bei den Carnivoren. Die salzsäure- und pepsinhaltigen Säfte dringen nur langsam vor und herrschen nur periodisch und in bestimmten Magenteilen (Pylorusseitig) vor, währenddessen dann die Milchsäuregärung sistiert ist. (Ellenberger und Scheunert, Lehrbuch der Physiologie.) Aus diesem Grunde ist die Milchsäure in den ersten Reihen K 1 & K 2 des Abschnittes X geprüft worden, wobei sich ergeben hat, daß dieselbe zwar keimauslösend wirken kann, aber nur in den engen und niedrigen Konzentrationsgrenzen 0,1—0,5%. Im Mageninhalt steigt der Milchsäuregehalt auf 1% und darüber, was aber einer erheblich höheren Konzentration der darin enthaltenen Lösung entspricht, die noch dazu bei 38° C einwirkt, ganz abgesehen von den übrigen Einwirkungen, die auf Abtötung und Auflösung der Pflanzenzellen gerichtet sind. Auch der Umstand, daß die anderen organischen Säuren erheblich günstiger einwirken als die Milchsäure, und daß die Keimung viel zu früh einsetzen würde, wenn die Sporen den Tierleib im zum Keimen angeregten Zustand verlassen würden, sprechen nicht dafür, daß das Passieren des tierischen Verdauungsapparates eine günstige Vorbereitung für die Sporenkeimung darstellt.

VI. Über den Einfluß arteigner Mycelien.

Ferguson hat es als einen neuen Faktor für die Sporenkeimung bezeichnet, daß die Mycelien des eigenen Pilzes die Keimung der Sporen auslösen; für die natürliche Entstehung der Pilze aus seinen Sporen kann dieser Faktor aber nicht in Betracht gezogen werden; wie dies auch schon von Duggar angedeutet wird. An den Stellen, an denen die Mycelien bereits entwickelt sind, kommt die Entstehung neuer Herde nicht mehr in Betracht. Wenn hier Sporen vorhanden sind, und unter dem Einfluß des Myceliums zum Keimen gelangen, wird ihre weitere Entwicklung vollständig gehemmt sein, wie das schon in den kleinen Tröpfchenversuchen zu beobachten ist, in denen das lebende Mycel einwirkt. In dem von Mycelien derselben Art okupierten Substrat ist kein Raum mehr für die Entwicklung des Sporenmycels.

Es bliebe aber noch der Einfluß bestehen, den das Mycel

der vorkeimenden Sporen auf die Nachkeimungen ausüben soll. Ferguson hat ihre Annahme nicht bewiesen, sondern diesen Schluß gezogen, weil das übertragene Oberflächenmycel denselben Einfluß ausübte. Es ist aber zu berücksichtigen, daß das aus den Sporen entwickelte primäre Keimmycel nicht bloß gestaltlich, sondern auch physiologisch von dem später entwickelten sekundären Oberflächenmycel unterschieden ist und dieselbe Wirkung nicht ohne weiteres behauptet werden kann. Selbst wenn es zuträfe, daß in allen Fällen auf Erstkeimungen mehr oder weniger totale Nachkeimungen folgen, behielte die Frage, auf welche Einflüsse die Erstkeimungen zurückzuführen sind, die entscheidende Bedeutung.

Es ist ferner zu berücksichtigen, daß bei fast allen von uns bisher untersuchten Pilzarten die Sporen nicht gleichzeitig auskeimen, sondern daß immer Nachkeimungen in wechselnden, zeitlichen Abschnitten folgen. Dabei kann in der Regel beobachtet werden, daß diese Nachkeimungen in den kleinen Tropfen keine günstige Bedingung mehr vorfinden und sich auch mehr oder weniger abnorm entwickeln oder unentwickelt bleiben. Beim Champignon sind die zeitlichen Abstände naturgemäß um so größer, als hier überhaupt zeitliche Hemmungen erheblicher Art vorliegen, wie dies im Abschnitt über die Physiologie der Keimung noch näher besprochen werden soll.

VII. Die Richtlinie der eignen Versuche und die in der vorliegenden Arbeit vertretene neue Arbeitshypothese.

Als ich vor etwa zwölf Jahren die ersten methodischen Keimversuche mit den Sporen des Champignons anstellte, waren mir die Arbeiten von Duggar und Ferguson noch nicht bekannt (ich habe sie jetzt erst bei der Niederschrift dieser Arbeit im Original gelesen). Um diese Zeit hatte ich mich mit der Sporenkeimung des wilden und echten Hausschwammes beschäftigt und gefunden, daß die Pflanzensäuren, insbesondere Apfelsäure Bernsteinsäure den Keimungsprozeß in Tröpfchenkulturen auslösen. Ich konnte ferner beobachten, daß dem Befall des Holzes durch die Hausschwammarten bestimmte andere Fäulniserreger vorangehen, die Pflanzensäuren der obigen Art im Holz erzeugen und die saure Reaktion desselben bedingen. Durch Impfung solchen vorerkrankten Holzes mit Hausschwammsporen konnten unter sterilen wie natürlichen Verhältnissen Entstehungsherde des echten Hausschwammes erzeugt werden, während gesundes Holz nicht angegriffen wurde. Dadurch

war bewiesen, daß es sich bei dem Hausschwammbefall des Holzes in der Natur um ein Zusammenwirken verschiedener Organismen handelt, von denen die einen vorangehen und eine Art von Prädisposition schaffen für den eigentlichen Erreger, der nachfolgt. Nach diesen Feststellungen war es naheliegend, auch beim Champignon ähnliche Verhältnisse vorauszusetzen, da dieser Pilz auf Dünger bekanntlich immer erst auftritt, nachdem eine ganze Flora anderer Fadenpilze vorangegangen ist. Erst treten die schnellwüchsigen Mucorineen auf, dann folgen die Schlauchpilze (Ascomyceten) und Schimmelarten (Hyphomyceten), zuletzt erscheinen in zahlreichen Arten die Fallträgerpilze (Basidiomyceten), zu denen auch der Champignon gehört. Unter diesen pflegen wiederum Vertreter der artenreichen Gattung Coprinus voranzugehen. Die meisten dieser Pilzformen vollziehen den Abbau der organischen Substanz unter Ausscheidung von Pflanzensäuren. Glukonsäure, Parasacharinsäure, Zitronensäure, Apfelsäure, Weinsäure und Oxalsäure sind im Mykologischen Institut als Stufen dieses Abbaues isoliert und identifiziert worden. Aus diesem Grunde habe ich bei den Keimversuchen, über die in dieser Arbeit berichtet wird, die Prüfung der verschiedenen Pflanzensäuren in den Vordergrund gestellt.

Die Entwicklung der oben genannten Flora und damit in Zusammenhang die natürliche Champignon-Entwicklung ist aber von bestimmten äußeren Bedingungen abhängig. Sie ist behindert

a) wenn der Dünger oder die in Betracht kommenden Pflanzenteile durch Ackerung oder durch tierische Einflüsse (Regenwürmer) tiefer unter die Erde geraten oder zusammen mit Erde schnell kompostiert werden;

b) wenn sie zwar an der Erdoberfläche verbleiben, aber in zu großen Haufen zusammenliegen und der beschriebenen heißen Rotte unterliegen;

c) wenn sie in größeren Mengen unter Luftabschluß zusammenliegen und keine Veränderung erfolgt oder die Milch- oder Buttersäuregärung zur Herrschaft gelangt;

d) wenn die natürliche Entwicklung durch wiederholte mechanische Eingriffe (Umarbeit) gestört wird.

Es sind vielmehr Verhältnisse derselben Art erforderlich wie sie bei den Hutpilzvegetationen in den Wäldern gegeben sind, wo der jährliche Laubfall auf der feuchten Erdoberfläche im Schatten der Bäume in dünner Schicht ungestört liegen bleibt.

Demgemäß tritt der Champignon nach meinen Beobachtungen

auf Düngerhaufen, welche die heiße Gärung durchgemacht haben, in der Regel nicht auf. Man findet ihn in der Natur vielmehr überall dort, wo kleinere Düngermengen oder strohige (pentosane- und zellulosereiche) Kräuter-Reste in nicht zu dicken Schichten unmittelbar auf feuchter Erde an schattigen geschützten Stellen verrotten, also unter Bedingungen, die für die Entwicklung der bodenbewohnenden Fadenpilzflora im allgemeinen als Voraussetzung gültig sind. Die speziellen Zusammenhänge sollen in dieser Arbeit noch nicht behandelt werden, das kann erst in einer folgenden Arbeit geschehen, die sich mit der Brutzucht und Brutbeurteilung befassen wird. Nur das eine soll hier noch erwähnt werden, daß die von den Franzosen eingeführte gebräuchliche Kulturmethode des Champignons auf Dünger, der die heiße Verrottung durchgemacht hat, durchaus nicht den natürlichen Verhältnissen entspricht, sondern als eine künstliche (nicht naturgemäße) Zuchtmethode betrachtet werden muß.

Die neue Arbeitshypothese.

Nach den im letzten Abschnitt D dieser Arbeit zusammengefaßten Ergebnissen ist die Sporenkeimung physiologisch charakterisiert durch eine erhebliche zeitliche Hemmung des Keimprozesses, die das Voranwachsen schnellkeimender Fadenpilze voraussetzt. Soweit chemische Substanzen in Frage kommen, ist die Keimung nach den bisherigen Feststellungen begünstigt durch die Einwirkung bestimmter Pflanzensäuren in bestimmten Konzentrationen. Die saure Reaktion des Substrates wiederum ist bedingt durch den natürlichen Ablauf der säurebildenden Fadenpilzvegetationen (im Gegensatz zur vorwiegenden Bakterienentwicklung, die, wie bei der heißen Düngerrotte, in der Regel neutrale oder alkalische Reaktion voraussetzt). Hierbei kommen nur die rohfaserreichen Pflanzenstoffe oder deren unlösliche Anteile in Betracht (die den Verdauungsapparat pflanzenfressender Tiere unverdaut passieren), sofern sie der langsamen und ohne wesentliche Temperaturerhöhung verlaufenden organisch-sauren Verrottung durch Fadenpilze unterliegen. Die letztere tritt aber nur ein, wenn diese Pflanzenstoffe — gefressen oder ungefressen — verhältnismäßig lange Zeit an schattigen geschützten Stellen ungestört in Berührung mit dem normal-feuchten Erdboden oder auf einer sonstigen entsprechend feuchtbleibenden Unterlage liegen bleiben. Ist diese Hypothese richtig, dann zeigt sie zugleich den Weg zur natürlichen Brut- und Pilz-Zuchtmethode.

C. Experimentelle Vorarbeiten zur Begründung der neuen Hypothese.

VIII. Methodisches.

Die Sporen wurden besonders gut entwickelten Hüten der blonden Kulturrasse entnommen. Die Hüte wurden in voller Entfaltung bald nach der Zerreißung des Schleiers abgeschnitten und nach Entfernung des Stieles und des Schleiers die Sporen auf unterlegten sterilen Glasscheiben rein aufgefangen. Erst wenn eine dichte Sporenschicht abgesetzt hatte, wurden die Sporen verwendet und mit lanzettförmiger Nadel von gleichmäßig dicht besetzten trocknen Stellen entnommen. Die Methode der Objektglaskultur, wie sie Brefeld bei seinen Untersuchungen allgemein verwendet hat, erwies sich als nicht verwendbar, da offene Tröpfchen sich so lange Zeitfristen und bei so hoher Temperatur nicht ohne erhebliche Konzentrations-Veränderungen halten und beobachten lassen. Nur in luftdicht abgeschlossenen hängenden Tröpfchen konnten die Versuche erfolgreich durchgeführt werden. Die Methode dieser Tröpfchenkultur kann als bekannt vorausgesetzt werden. Sie hat natürlich den großen Nachteil, daß nur ganz kleine Nährtropfen Verwendung finden können, daß ferner eine Ergänzung der Nährlösung schwierig ist und die mangelnde Erneuerung in dem engen Raum alsbald Hemmung des Wachstums herbeiführt. Es ist daher auch bei guten Keimungen nicht ganz leicht, die Züchtung der Mycelien unter dauernder mikroskopischer Kontrolle fortzuführen, wie dies die Brefeldschen Objektglaskulturen ermöglichen.

Um die für die Gewinnung der Sporen nötigen Unterlagen zu haben, ist es notwendig, auf den Sporenwurf des Hutes etwas näher einzugehen.

IX. Über den Sporenwurf stehender und abgeschnittener Hüte.

1. Auf die Entwicklung des Hutes kann hier nur soweit eingegangen werden, als der Sporenwurf dabei in Frage kommt. Die Reifung der Basidien (Sporenträger) beginnt zuerst an den stielnahen Lamellenteilen und folgt der Lamellenausbildung, die mit der Entfaltung des Hutes in horizontaler und vertikaler Richtung gleichen Schritt hält. Mit der Öffnung des Hymenials (Lamellensystems), durch das verstärkte Breitenwachstum des Hutes bedingt, und dem Zerreißen des Schleiers beginnt der Sporenwurf; am 1. Tage noch schwach, steigt die in der Zeit-

Sporenwurf stehender Hüte auf dem Beet. Tellier's Sorte 283 im Keller bei 8° C. 2.—10. Mai.

	a) großer Fruchtkörper, eben geöffnet	b) Hut von 7 cm Durchmesser eben geöffnet	c) kleiner Pilz jung geöffnet
1. Tag	streut gut	sehr schwacher Belag	streut sichtbar
2. Tag	streut stark	guter Belag	streut gut
3. „	streut sehr stark	sehr starker Belag	sehr stark
4. „	streut stark	starker Belag, etwas weniger wie am 3. Tage	streut stark, aber weniger als am 3. Tage
5. „	stark aber deutlich geringer wie am 4. Tage	guter Belag, aber dünner wie am 4. Tage	streut schwach
6. Tag	streut schwach	sehr dünn belegt	noch sichtbarer Belag
7. „	streut noch sichtbar	sehr dünn	streut nicht mehr
8. „	streut kaum noch sichtbar	nichts mehr sichtbar	

einheit geworfene Sporenzahl schnell an. Am folgenden Tage ist bereits ein dichter brauner Sporenbelag auf dem unmittelbar unter der Lamellenschicht angebrachten Fangglas abgesetzt. Am 3. Tage wird das Maximum des Sporenwurfes erreicht. Der 4. Tag gleicht dem 2.—3., der 5. dem 1.—2. Am 6. Tage nach Beginn des Wurfes zeigt sich noch ein dünner Belag, der etwa dem vom ersten oder vorersten Tage gleicht. Am 7. Tage ist noch sehr dünner Belag sichtbar, von da ab ist der Sporenwurf beendet. Die vorliegende Rasse hat somit bei 8—10° C eine 6tägige Wurfperiode, davon etwa 4 Tage lang intensives Werfen, an 2 Tagen stärkster Sporenwurf. Ein geringes Sporenwerfen beginnt von den stielnahen Lamellenteilen oft schon mehrere Tage vor dem Reißen des Schleiers (man kann dies an der Innenseite des Schleiers wahrnehmen) und besonders dann, wenn der Schleier vorzeitig entfernt wird. Dies ermöglicht es, reife Sporen vor der Öffnung steril zu entnehmen.

Im Beginn des Versuchs sind die Hüte noch geschlossen, kurz vor der Öffnung. Der Schleier wurde zugleich mit dem äußersten Hutrande durch einen Querschnitt abgetrennt.

Ganz ähnlich verläuft hiernach der Sporenwurf an abgeschnittenen und des Stiels beraubten Hüten, sofern die Hüte im Gewicht nahezu ausgewachsen kurz vor der Öffnung des Hymenials von den Beeten abgenommen werden. Auch hier liegt das Maximum des Sporenwurfes am 3. Tage nach Beginn des allgemeinen Werfens, doch dauert das starke Werfen bei

Sporenwurf abgeschnittener Hüte derselben Rasse 283 in der Zeit vom 1.—13. Mai im Zimmer bei 10 -12° C.

Tag	Lamellenbreite		Sporenwurf auf dem Glase
	Hut 1	Hut 2	
	cm		
1.	0,6	0,6	ganz geringer Sporenbelag
2.	1,3	1,3	schwacher Belag
3.	1,8	1,7	sehr stark belegt
4.	2,2	1,8	sehr stark belegt
5.	2,4	1,9	stark belegt, geringer wie 4
6.	2,4	1,9	schwacher Belag, wie am 2. Tage
7.—9.	2,4	1,9	sehr geringer Belag
10.	2,4	1,9	kaum noch sichtbarer Belag
11.	2,4	1,9	Wurf beendet

der höheren Zimmertemperatur nur etwas über 3 Tage, um dann ebenso schnell abzufallen wie das Ansteigen erfolgte. Daß ein ganz geringes Sporenwerfen hier noch mehrere Tage lang nach Beendigung des allgemeinen Werfens beobachtet wird, liegt wohl an der besonders guten Beschaffenheit der Hüte. Diese Feststellung zeigt, daß man bei der Verwendung abgeschnittener Hüte keinen erheblichen Verlust an Sporen erleidet. Die hier verwendeten Sporen sind nur abgeschnittenen Hüten einer blonden, von unsern Züchtern jetzt bevorzugten Kultur-Rasse entnommen. Interessant ist die Beobachtung, daß nicht nur die Länge der Lamellen, sondern auch ihr Höhenwachstum mit dem Anstieg des Sporenwurfes entsprechend zunimmt. In der Zeit vom 1. zum 2. Wurftage wächst die Lamellenhöhe auf das doppelte, vom 1. bis zum 3. auf das dreifache und vom 1. bis zum 4. oder 5. Tage bei besonders gut ausgebildeten Hüten auf das vierfache der ursprünglichen Breite. Mit dem Aufhören des Höhenwachstums ist das Maximum des Sporenwurfes bereits überschritten oder der Sporenwurf so gut wie beendet. Das Wachstum erfolgt anscheinend intercallar, indem immer wieder neue Basidien zwischen die alten eingeschoben werden.

Daß das Abwerfen der Sporen und dementsprechend die Bildung und Reifung der Basidien während des Sporenwurfes ganz gesetzmäßig, d. h. in bestimmter Abhängigkeit von Oberfläche, Zeit und Temperatur erfolgt, ist für die Frucht des echten Hausschwammes und der Lenzites-Arten durch Sporenzählung in kleinsten Zeitabschnitten bei konstanten Temperaturen (l. c.) von mir bereits nachgewiesen worden.

X. Die Keimungsversuche.

1. Versuchsreihe (K 1), 2. Versuchsreihe (K 2), 3. Versuchsreihe (A) aus Tabelle 6 der Arbeiten von Marg. C. Ferguson, 4. Versuchsreihe (B.), 5. Versuchsreihe (C.), 6. Versuchsreihe (D.), 7. Versuchsreihe (E), 8. Versuchsreihe (10), 9. Versuchsreihe (10b), 10. Versuchsreihe (11).

Die Versuchsreihe K 1 und K 2 von Dr. Kobayashi ausgeführt, ist zuerst und ausführlicher mitgeteilt, um die Anlage der Versuche zu zeigen. Nicht bloß die Konzentration, sondern auch die Einwirkungsdauer ist in den in Betracht kommenden Grenzen variiert worden.

1. Versuchsreihe K 1 vom 23. Dezember.

Dauer der Vorbehandlung bei 15—18° C	Vers. Nr.	Zur Vorbehandlung verwendete Säure in %	Keimung in Düngerauszug[1]) bei 26° C, Zahl der ausgekeimten Sporen: Nach 5 Tag.	Nach 6 Tag.	Bemerkungen
1/2 St.	30	0,1 Milchsäure	0	0	
1/2 „	31	0,25 „	0	0	
1/2 „	32	0,50 „	0	0	
1/2 „	33	1,0 „	0	0	
5 „	34	reines Wasser	0	0	großes Mycel
5 „	35	0,1 Milchsäure	0	0	
5 „	36	0,25 „	Kmg. Tf. 1 Fig. 3	100	von 400 Sp.
5 „	37	0,50 „	Kmg. Tf. 1 Fig. 4	30	sehr kräftig
5 „	38	1,0 „	0	0	

Im Versuch 36 (Tf. 1, Fig. 3) sind nach 5 Tagen bei 26° C Erstkeimungen in allen Stadien zu beobachten. Eben austretende Keimblasen und Schläuche in Längen bis zu 80 μ. Die letzteren meist mit etwas einschnürenden Scheidewänden, was auf nachträgliche Volumvergrößerung hinweist.

Im Versuch 37 (Tf. 1, Fig. 4) zeigt sich ein ähnliches Bild, wie Fig. 3, die Schläuche sind nach 6 Tagen aber etwas kürzer und dünner und mit plasmatischem Inhalt stärker gefüllt.

2. Versuchsreihe K 2.

In der Kultur 60 haben sich die erst gebildeten Keimschläuche gut entwickelt und schon nach 8 Tagen ein dünnes

[1]) Der Düngerauszug wurde aus vergorenem Dünger, wie er bei der Champignonzüchtung benutzt wird, durch Auslaugen mit kaltem Wasser hergestellt und auf dieselbe Konzentration gebracht, wie im normal feuchten vergorenem Dünger.

Dauer der Vorkeimung bei 26° C	Vers. Nr.	Zur Vorbehandlung verwendete Säure in %	Zur Keimung verwendetes Substrat	Zahl der ausgek. Sporen nach 5 Tag.	nach 6 Tag.	nach 8 Tag.	
1 St.	39	0,1 Milchsäure	Dg. Extr.	0	0		
1 „	40	0,25 „	„ „	10	20(400)		
1 „	50	0,50 „	„ „	4	17(400)		
1 „	51	reines Wasser	5% B. W.	0	6		
1 „	52	0,1 Milchsäure	5% „ „		3		
1 „	53	0,2 „	5% „ „				
1 „	54	0,5 „	5% „ „		1		
2 „	55	reines Wasser	Dg. Extr.	0	0		
2 „	56	0,1 Milchsäure	„ „	u.	u.		bei 60 viele kräftige Nachkeimungen
2 „	57	0,25 „	„ „	0	1		
2 „	58	0,50 „	„ „	0	0		
2 „	59	reines Wasser	5% B. W.	0			
2 „	60	0,1 Milchsäure	5% „ „	6%	10%		
2 „	61	0,25 „	5% „ „	u.	u.		
2 „	62	0,50 „	5% „ „	0	0		
3½ „		reines Wasser	Dg. Extr.	0	0		
3½ „	63	0,1 Milchsäure	„ „	0	0		
3½ „	64	0,25 „	„ „	u.	u.		
3½ „	65	0,50 „	„ „	u.	u.		
3½ „	66	reines Wasser	5% B. W.	0	0	1	
3½ „	67	0,1 Milchsäure	5% „ „	0	0	1	
3½ „	68	0,25 „	5% „ „	1	1	1	
3½ „	69	0,50 „	5% „ „	3	12	?	
5 „	70	reines Wasser	Dg. Extr.	0	0	1	
5 „	71	0,1 Milchsäure	„ „	u.	u.		
5 „	72	0,25 „	„ „	1	5	Infekt.	
5 „	73	0,50 „	„ „	0	7	„	
5 „	74	reines Wasser	5% B. W.	0	0	0	
5 „	75	0,1 Milchsäure	5% „ „	0	0	0	
5 „	76	0,25 „	5% „ „	0	0	0	
5 „	77	0,50 „	5% „ „	0	0	0	
7 „	78	reines Wasser	Dg. Extr.	0	0	0	
7 „	79	0,1 Milchsäure	„ „	0	0	0	lange Schläuche
7 „	80	0,25 „	„ „	0	0	0	
7 „	81	0,50 „	„ „	0	0	0	
7 „	82	reines Wasser	5% B. W.	0	0	0	
7 „	83	0,1 Milchsäure	5% „ „	0	0	0	
7 „	84	0,25 „	5% „ „	0	0	2	
7 „	85	0,50 „	5% „ „	0	0	0	
24 „		wie oben	wie oben	keine Entwicklung			

u. = unrein. ( ) = Zahl der ausgesäten Sp.

Mycelnetz gebildet, dessen Bildung in der Textfig. 1 gezeichnet ist. Die Kulturen wurden längere Zeit beobachtet.

Das zuerst gebildete Mycel begann nach 4 Wochen zu vergehen. Es wurde neue Nährlösung zugefügt, darauf wurden an einzelnen Stellen Mycel-Abschnitte (Textfig. 4a) abgegliedert, die in den 4 Wochen alten Kulturen zu neuen Mycelien heranwuchsen. In der Textfig. 4b ist ein solches neugebildetes Verzweigungssystem gezeichnet, das von einem älteren Faden

ausgeht, der auf seiner ganzen Oberfläche mit Kalkoxalatkrystallen bedeckt ist.

Die Versuche der Reihen K 1 und K 2 zeigen ferner, daß die Säurekonzentration eine ausschlaggebende Rolle spielt, da nur innerhalb bestimmter Konzentrationsgrenzen die auslösende Wirkung in die Erscheinung tritt. Dies zeigt sich sowohl bei der Vorbehandlung der Sporen mit reinen Säurelösungen, z. B. in den Tabellen K 1 und K 2, wie auch bei den direkten Zusätzen zur Nährlösung. In der Reihe K 1 wirkten

Fig. 1.
Natürliches Keimungsbild. Erstkeimungen, sich zum Netzmycel zusammenschließend, dazwischen Nachkeimungen und ungekeimte Sporen. Vergr. 500. Nach 6 Tg. bei 26° in 5% Malzextr. (Sporen 2 Std. in 0,1% Milchsäure bei 26° vorbehandelt).

nach 5 stündiger Vorbehandlung bei 18° C 0,25—0,5 % Milchsäure auslösend, während die niedrigeren und höheren Konzentrationen nicht mehr wirksam waren. Nach Einwirkung von 0,25 % keimten 100 von 400 Sporen, von 0,5 % keimten nur 30 von 400 Sporen. Es gibt also ein eng begrenztes Optimum der Säurekonzentration.

Auch die Einwirkungsdauer ist bei der Vorbehandlung zu begrenzen. So hatte eine $^1/_2$ stündige Einwirkung 0,1—1 % Milchsäurelösung in der Reihe K 1 in 6 Tagen noch keine Wirkung.

Nach 5 stündiger Einwirkung der Milchsäure bei 26° C. waren in zwei Kulturen noch einzelne Keimungen zu beobachten, nach 7 Stunden nicht mehr.

In der Reihe K 2 ist die Einwirkungstemperatur verändert, es sind auch 2 verschiedene Nährlösungen, das zuckerfreie Düngerextrakt und die zuckerreiche Malzextraktlösung verwendet worden. Die Ergebnisse zeigen, daß in dieser Reihe die höhere

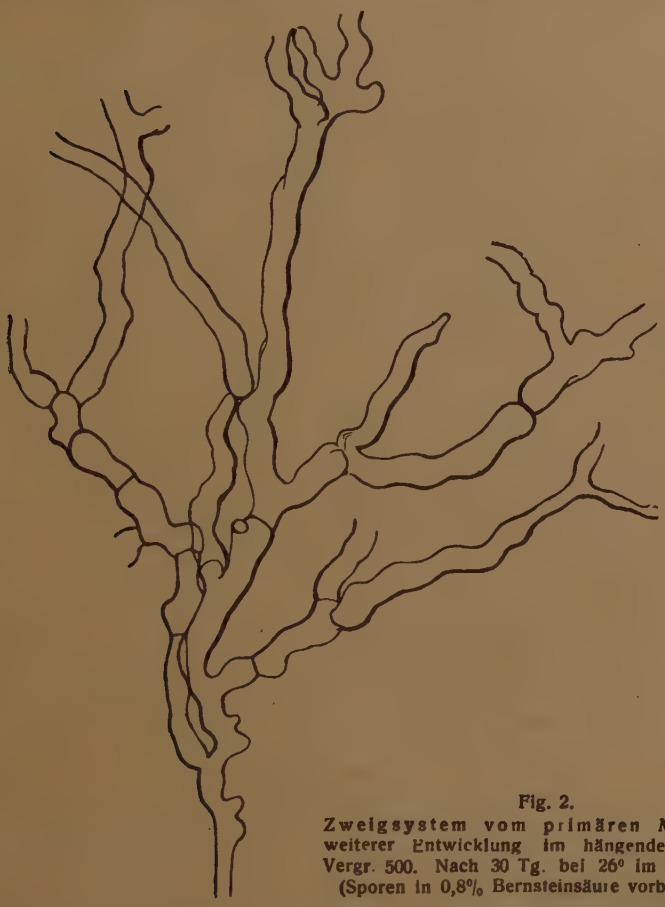


Fig. 2.
Zweigsystem vom primären Mycel bei weiterer Entwicklung im hängenden Tropfen. Vergr. 500. Nach 30 Tg. bei 26° im Düng.-Extr. (Sporen in 0,8% Bernsteinsäure vorbehandelt).

Temperatur von 26° C dahin wirkte, daß schon nach $^1/_2$ stündiger Einwirkung der 0,25—5 % Milchsäurelösung die optimalen Keimprozente nach 5—6 Tagen im Düngerextrakt erreicht wurden, während bei längerer Einwirkungsdauer nur hier und da vereinzelte Keimungen auftraten. Daraus ist abzuleiten, daß auch der Temperatur während der Einwirkungszeit eine gewisse Bedeutung zukommt, derart, daß bei höherer Temperatur eine entsprechend kurze Einwirkungsdauer der optimalen Konzen-

tration zur Umwendung kommen muß, wenn gute Keimung erreicht werden soll.

Ferner zeigen die Versuche, daß die Keimungen (wie schon aus Fergusons Ergebnissen hervorgeht), auch in beliebigen anderen Nährlösungen erfolgen. In der zuckerhaltigen Nährlösung (Bierwürze), traten die besten Keimungen im Versuch 60 nach 2 stündiger Einwirkung der 0,1 % Milchsäure auf und die Entwicklung der Schläuche war hier sichtbar günstiger als im Düngerextrakt, weshalb gerade diese Kultur länger verfolgt und später auch auf Agar-Substrat übertragen werden konnte.

Ferguson gibt an, nur bei Einwirkung des lebenden Champignonsmycels, sonst in keinem Falle, sofort hohe Keimprozente (40 %) erhalten zu haben; es hätten immer erst einige Sporen vorangekeimt, und unter der Wirkung des Keimschlauchmycels sei dann die Keimung der übrigen Sporen erfolgt. Es soll daher hier noch hervorgehoben werden, daß in dem Versuch 36 der Reihe K 1 nach 6 Tagen gleich etwa der vierte Teil aller Sporen gekeimt hat, ohne daß einzelne Sporen noch früher vorangekeimt haben. Keimungen dieser Art wurden hier und da auch in den späteren Reihen beobachtet.

In der folgenden 3. Versuchsreihe A ist geprüft worden, ob andere Säuren bei der Vorbehandlung der Sporen dieselbe Wirkung haben, wie die Milchsäure.

Geprüft wurden neben Milchsäure, Apfelsäure und Bernsteinsäure in den Konzentrationen 0,1 0,2 0,4 und 0,8 %. Während in den Versuchen K1 und K2 die Sporen in kleinen Reagensgläsern mit den Säuren angeschüttelt wurden, wurden sie in diesem Versuch in dem Hohlschliff von Objektivgläsern in einigen größeren Tropfen der Säurelösung mit der Platinnadel angerührt und die Objektgläser in Petri Schaalen gebracht, deren Deckel und Boden mit feuchtem Fließpapier belegt war (so daß die Luft einwirken konnte). In der Säure wurden die Sporen 5 Stunden lang bei Zimmer-Temperatur (ca. 20° C.) belassen und dann in hängenden Tropfen von Düngerextrakt in den Thermostaten von 26° C. zum Keimen gestellt. In dieser Reihe waren nach 6 Tagen viele Tropfen unrein. Von den mit 0,2 % Milchsäure vorbehandelten Sporen haben vereinzelte gekeimt. Erheblich zahlreicher sind die Keimungen bei den Sporen, die 5 Stunden in 0,8 % Apfelsäure gelegen hatten.

Die meisten Keimungen zeigte der in 0,8 % Bernsteinsäure vorbehandelte Versuch: hier waren nach 6 Tagen bei 26° C. etwa 20 % der Sporen gekeimt und die Schläuche z. T. 100 μ (= $^1/_{10}$ mm) lang und länger mit 2—5 Seitenästen: Nach

einem Monat haben die Erstkeimungen den Tropfen ziemlich durchwachsen mit reich verzweigten Mycelien. Die Fäden haben Scheidewände und kleine Auftreibungen, aber keine Schnallen. Die Nachkeimungen sind mehr oder wenig gehemmt entwickelt, die nachgekeimten Mycelien dünn, querwandfrei, mit ungleichen Konturen und abenteuerlichen Verzweigungen.

Die Versuche der beiden Reihen zeigen, daß die Vorbehandlung mit Lösungen organischer Säuren die Keimung auslösend beeinflußt. Dieses Ergebnis steht scheinbar im Widerspruch mit den Resultaten von Ferguson, die in Apfelsäure keine, in Milchsäure und Hippursäure nur geringe Keimprozente erhalten hat und den Säuren somit keinen stimulierenden Einfluß zuschreibt. Wenn man aber die Tabelle 6 in Fergusons Arbeit genauer durchsieht, dann ist doch auch hier der keimauslösende Einfluß der Milchsäure unverkennbar. Ich entnehme der Tabelle 6 die vier Rubriken, welche Angaben über die Wirkung bestimmter Zusätze von Milchsäure, Ammoniak, Ammonitrat und Asparagin zum Düngerextrakt erhalten:

Aus Tab. 6 der Arbeit von Margaret C. Ferguson.
Percentage of germination.
Temperatur 28° C. — Agaricus Campestris.

Strenght of solution	NH_4OH in Manure decoction		NH_4NO_3 in- Manure decoction	
	9 days	21 days	9 days	21 days
$\frac{N}{1000}$	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	1 spore	1 spore
$\frac{N}{10000}$	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	1 spore	5 spores
	Lactic acid		Asparagin	
$\frac{N}{1000}$	0	0	0	0
	28 spores	98	0	0
	4 spores	4 spores	0	0
	2 spores	98	0	0
$\frac{N}{10000}$	0	0	0	0
	3 spores	3 spores	0	0
	1 spore	1 spore	0	0
	0	0	0	0

sie zeigen eigentlich dasselbe, was ich aus den obigen Versuchen K1 und K2 ableite. Ein Zusatz von $\frac{N}{10000}$ Milchsäure hat noch keinen Einfluß. $\frac{N}{1000} = 0{,}009\,\%$ Milchsäure bewirkt in 2 von 4 Versuchen 98% K. in 21 Tagen, während die 3 anderen Zusätze das Ammoniak, das Ammoniumnitrat und Asparagin in denselben Konzentrationen keinen Einfluß haben. In der Tabelle 5 derselben Arbeit haben die Sporen in Milchsäure-Lösungen derselben Konzentration auch im Düngerextrakt in keinem Fall gekeimt. Hier sind die Sporen aber vorher in hohen Kältegraden behandelt und dadurch anscheinend geschädigt worden. Ferguson erklärt die positiven Ergebnisse dieser Versuche damit, daß das Mycel der nach 9 Tagen zufällig vorgekeimten Sporen das Nachkeimen der übrigen auslöst, also im Sinne ihrer Myceltheorie. Wir sehen aber schon in dem hier mitgeteilten Auszug ihrer Versuchsreihen, daß in 5 von 7 positiven Keimversuchen die Erstkeimungen keinen Einfluß auf die übrigen Sporen ausüben. Auch bliebe immer noch der Einfiuß der Säure auf die 34 Sporen bestehen, die ohne Myceleinfluß primär gekeimt sind.

In der folgenden 4. Versuchsreihe (B) wurde im Vergleich mit der am günstigsten wirkenden Bernsteinsäure auch noch Oxalsäure geprüft, die von den meisten Basidiomycetenmycelien und vielen anderen kräftig wachsenden Fadenpilzen (Aspergillusarten) reichlich gebildet wird, sowie die fadenpilzfeindliche Essigsäure.

Die Sporen wurden in derselben Art 5 Stunden lang in den Säurelösungen vorbehandelt. Dann in Tröpfchen Düngerextrakt übertragen und im hängenden Tropfen bei 26° C zum Keimen gestellt. Zur Vorbehandlung wurde verwendet: 0,8% Bernsteinsäure, 0,8% Oxalsäure und 0,8% und 0,4% Essigsäure.

Nach 6 Tagen waren noch keine Keimungen zu beobachten.

Nach 9 Tagen waren bei den in 0,8% Bernsteinsäure vorbehandelten Sporen 3% gekeimt, z. T. mit längeren Schläuchen, in den mit 0,8% Oxalsäure vorbehandelten nur vereinzelte Keimungen.

Nach 17 Tagen bei 0,8% B. S. Netzstadium, aber viele Fäden bereits im Absterben. Fast totale Nachkmg. mit reduzierten Schl. (Tafel IV, Fig. 20.)

Nach 32 Tagen bei 0,8% B. S. ältere Mycelien nur noch in den Umrissen zu erkennen. Einzelne Nachkeimungen

im Vergehen, alle bisher ungekeimten Sporen gekeimt. (Totale Nachkeimung.)

Bei Oxalsäure nach 17 Tagen ebenfalls viele Nachkeimungen.

Die mit Essigsäurelösung vorbehandelten Sporen zeigten keine Keimung.

5. Versuchsreihe (C) vom 1. 2. 22.

Es war nun zu prüfen, ob die Säuren dieselbe auslösende Wirkung haben, wenn sie der Nährlösung direkt zugesetzt werden. In der folgenden Versuchsreihe C vom 1. Febr. wurden die Sporen ohne Vorbehandlung dem säurehaltigen Düngerextrakt gleich zugesetzt, und zwar dem auf dem Deckglas befindlichen größerem Tröpfchen 1—2 mit der Platindrahtöse entnommene kleine Tröpfchen: 0,8% Bernsteinsäure (C 1), 0,8% Apfelsäure (C 2), 0,4% Milchsäure (C 3) und 0,8% Oxalsäure (C 4).

Das Ergebnis ist folgendes:

In Bernsteinsäure (C 1) nach 6 Tagen etwa 5% gek. z. T. mit längeren Schläuchen z. T. stark gehemmt;
nach 34 Tagen viele Nachkeimungen im Spinnenstadium, ohne weiterzukommen.

In Apfelsäure (C 2). Etwa 5% gek. In dem Gläschen mit 1 Tropfen Säure die jungen Stadien abnorm verzweigt (Taf. II, Fig. 9).
Nach 70 Tagen noch Nachkeimungen. Einzelne mit kleinen korallenartig verzweigten Keimen.
In den Gläschen mit 2 Tropfen Säure sind nach 8 Tagen viele Kg. Schläuche stäbchenförmig, dünn und gehemmt (Taf. II, Fig. 10). Einige vorgek. Fäden etwas stärker entwickelt. Nach 34 Tagen Fäden meist im Vergehen.

In Milchsäure (C 3). In 6 Tagen keine Kg. In 11 Tagen ca. 2% gek. mit langen unverzweigten Schläuchen.
Nach 34 Tagen noch vereinzelte Nachkg. mit längeren Schläuchen.

In Oxalsäure (C 4). Keine Keimung.

6. Versuchsreihe (D) vom 1. 2. 22.

Die gleichen Sporen wie im 4. Versuch B wurden 24 Stunden bei 8° C in der Säurelösung belassen, dann erst in den Düngerextrakttropfen übertragen und bei 26° C zum Keimen gestellt.

Verwendet wurden:

D 1 0,8% Apfelsäure, D 2 0,8% Bernsteinsäure, D 3 0,4% Milchsäure, D 4 0,8% Oxalsäure und D 5 0,4% Essigsäure.

Nach 6 Tagen wurde beobachtet:

D 1 keine Keimung.
D 2 ca. 10% in den ersten Stadien der Keimung. Die weitest vorgeschrittenen haben 40 bis 50 μ lange Keimschläuche mit einer Scheidewand; gleichmäßig dichtes Plasma ohne Vakuolen.
D 3 keine Keimung.
D 4 einzelne Keimungen.
D 5 keine Keimung.

Nach 8 Tagen:

D 1 5% Keimungen.
D 2 Keimungen gut fortgeschritten.
D 4 etwa 5% gekeimt mit gut entwickelten Schläuchen, häufig mit 2 Keimblasen.
D 3 und D 5 keine Keimungen, ebenso in reinem Düngerextrakt.

Nach 21 Tagen:

D 4 die zuerst gekeimten Sporen haben lange Schläuche mit wenig Verzweigungen gebildet, außerdem zahlreiche Nachkeimungen, z. T. noch im Keimblasenstadium, z. T. mit Schläuchen, diese mit dichtem lichtbrechendem Plasma.

Nach 31 Tagen:

D 1 überall Nachkeimungen in Mosaikform, wie Taf. II, Fig. 8 stellenweise fast alle Sporen mit kurzen Schläuchen gekeimt.

7. Versuchsreihe (E) vom 1. 2. 22.

Die Sporen wurden in destilliertem Wasser zum Brei angerührt und ohne Nährlösung dem Tröpfchen einer reinen Säurelösung in destilliertem Wasser zugefügt:

(E 1—4) Äpfelsäure 0,8%, 0,4%, 0,2%, 0,1%.
(E 5—8) Bernsteinsäure } dies. Konzentrationen.
(E 9—12) Milchsäure }
(E 13) dest. Wasser.
(E 14) verdünnte Bierwürze.

Nach 5 Tagen vereinzelte Keimungen.

Nach 7 Tagen:

In Apfelsäure bei allen 4 Konzentrationen einzelne Keimungen; nach 10 Tagen in 0,1% Mosaikkeimungen (Taf. II, Fig. 8).
In 0,8% Bernsteinsäure vereinzelte Keimungen.
In 0,4 u. 0,2% Bernsteinsäure stellenweise 4% gekeimt.
In 0,1% Bernsteinsäure ca. 10% mit auffallend langen Schläuchen wie in guten Nährlösungen.
In der Milchsäure 0 Keimungen.
In dest. Wasser 5% gekeimt mit dicken kräftigen Schläuchen. 24. (Taf. 1, Fig. 1b). Die Keimschläuche dicker, schwach aufgetrieben, stark vakuolig.

In verdünnter Bierwürze vereinzelte Keimungen an den Rändern des Tropfens.

Nach 16 Tagen:

In 0,4% Äpfelsäure Keimungen im Spinnenstadium, dünnfädig.

In 0,8% Bernsteinsäure lange verzweigte Fäden mit Querwänden.

In 0,4% Bernsteinsäure kurze oder lange Schläuche, alle gerade und unverzweigt, gut weiterentwickelt.

In 0,1% Bernsteinsäure lange gradlinige Fäden, z. T. verzweigt.

In Milchsäure: nur in 0,1% vereinzelte Keimungen.

In verd. Bierwürze einzelne lange Mycelien mit Querwänden.

Nach 30 Tagen:

In 0,1% Bernsteinsäure wurde nach 14 Tagen verdünnte Bierwürze zugesetzt. Fast totale Nachkeimung, ca. 50% mit dicken plasmareichen Schläuchen. In Klümpchen zusammenliegende Sporen geben jetzt Keimbilder wie die Schläuche von Penicilliumsporen, wie Fg. 23.

In 0,8% Bernsteinsäure kurze Mosaikkeimungen; lange dünne Fäden von Erstgekeimten sind im Vergehen.

8. Versuchsreihe (10) vom 24. 2. 22.

a) Bernsteinsäure (B. S.) in Düngerextrakt (D. E.) bei 24° C. Nach 6/7 Tagen (i. Gr. = im Tröpfengrund).

1. 0,5% B. S. 0 Keimungen.
2. 0,25% B. S. Zahlreiche und sehr gute Keimungen i. G.
3. 0,12% B. S. Gute Keimungen i. Gr.
4. 0,06% B. S. Gute Keimungen, besonders der in Klümpchen i. Gr. befindlichen Sporen.
5. Ohne Zusatz 0 Keimung.

Nach 9/10 Tagen:

1. 0,5% B. S. Viele submerse Keimungen mit Schläuchen; die schwimmenden Sporen ungekeimt.
2. 0,25% B. S. Nahezu totale Nachkeimungen 70–80% (ausgezählt). Die schwimmenden meist mit Blase und daraus entwickelten zahlreichen Schläuchen nachgekeimt. Die Erstgekeimten bilden reichverzweigte geweihähnliche Mycelien mit stark lichtbrechendem homogenem Inhalt. Beste Entwicklung. Einige weitverzweigte Mycelien sind in den jüngsten Auszweigungen bereits gehemmt (stark verjüngter Fäden mit körnigem Inhalt, schwach konturiert). Im inneren Mycel und an einzelnen Zweigen beginnen schon einzelne Mycelabschnitte sich abzugliedern und mit plasmatischem Inhalt stark zu füllen. Immer noch junge und jüngste Nachkeimungen vereinzelt liegender Sporen.

3. 0,12% B. S. Nahezu totale Nachkeimungen. Die meisten erst die Keimung beginnend. (Taf. III, Fig. 15.) Die Erstgekeimten haben, vom Korallenstudium ausgehend, lange gradlinige Hyphen gebildet mit normalen Verzweigungen und Scheidewänden.
4. 0,06% B. S. Zahlreiche Nachkeimungen. Die Erstgekeimten mit dünnen Schläuchen normal entwickelt, nicht so weit wie 2 und 3.
5. Ohne Zusatz 0 Keimungen.

Nach 20/21 Tagen:

1. 0,5% B. S. Etwa 20% Nachkeimungen, die nicht weiterkommen. Kurze zugespitzte Schl. Taf. IV, Fig. 21.
2. 0,25% B. S. Beste Entwicklung. Die Nachkeimung total (Taf. III, Fig. 18); die zuletzt gekeimten Sporen mit prallem Inhalt. Bei vielen Keimmycelien die Spitzen bereits im Vergehen (Taf. III, Fig. 19), die zuerst gekeimten haben locker verzweigtes Mycel gebildet, aus welchem sich führende Hyphen mit Verzweigungen und Querwänden, aber ohne Schnallen, typisch abgegrenzt haben. Stellenweise sind einzelne Abschnitte abgeschnürt und zeigen den Charakter der in Bildung begriffenen Gefäßhyphen. Beste Kultur.
3. 0,12% B. S. Das Gläschen hat offenbar durch äußere Einflüsse gelitten. Es waren Keimungen in allen Stadien vorhanden, diese sind fast vollständig vergangen.

9. Versuchsreihe (10b) vom 24. 2.

b) Bernsteinsäure (B.S.) in neutraler Malzextraktlösung (M.E.)

Nach 6/7 Tagen.

6. 0,5% B. S. 0 Keimungen.
7. 0,25% B. S. Viele Sporen i. Gr. kräftig gekeimt.
8. 0,12% B. S. Einzelne Keimungen i. Gr.
9. 0,06% B. S. unrein.
10. Ohne Zusatz 0 Keimungen.

Nach 9/10 Tagen.

6. 0,5% B. S. Die Sporenklümpchen i. Gr. gut gekeimt. Schläuche gut entwickelt.
7. 0,25% B. S. Totale Nachkeimungen. Kaum eine ungekeimte Spore. (Taf. III, Fig. 16a.) Die Erstgekeimten reich verzweigt. Viele Sporen keimen an mehreren Stellen zugleich.
8. 0,12% B. S. Stellenweise häufige Keimungen. Sonst vereinzelt.
10. Ohne Zusatz 0 Keimungen.

Nach 20/21 Tagen.

6. 0,5% B. S. Ganz junge Nachkeimungen mit stark lichtbrechenden fast kreisförmigen Blasen. (Taf. IV, Fig. 22.) Die Erstkeimungen mit langen verzweigten Schläuchen, die im Vergehen sind: Die Konturen der Hyphen-Membran werden immer zarter und durchsichtiger, das Plasma zieht sich zusammen, wird körnelig und schwindet, bis nur noch die festen körnigen Bestandteile sichtbar sind.
7. 0,25% B. S. Totale Keimung. Auffällig die vielen entleert aussehenden Sporen. Stellenweise dünnes Mycel.
8. 0,12% B. S. Cirka 30% nachgekeimt mit langen Schläuchen, i. Gr. und an der Oberfläche gleichmäßig ohne Blasenstadium gekeimt. (Taf. IV, Fig. 23.)

In dieser Versuchsreihe wurden die besten Keimungen erzielt, so daß sich die Vorbehandlung der Sporen mit Säuren erübrigt und nur die Verwendung entsprechend saurer Nährlösungen in Frage kommt. Es wurde festgestellt, daß die P_H-Konzentration der 10% M. E.-Lösung durch den Zusatz von 0,2% B. S. von 5 auf 3,3 erhöht wird.

10. Versuchsreihe (11) vom 3. 3.

Einfluß der Temperatur.

Die Sporen wurden in einer Lösung von 0,25% B. S. in Bierwürze ausgesät und bei verschiedener Temperatur gehalten.

Es zeigt sich, daß Keimungen bei 10, 14, 18, 22, 26 und 30° C. eintreten. Die Lage des Optimums war nicht sicher zu bestimmen, sie liegt zwischen 22—26° C.

Bei 14° C. traten Keimungen sowohl in reinem destillierten Wasser, wie in Wasser mit 0,1% B. S., wie auch in Bierwürze mit Zusatz von 0,25% B. S. ein.

Während in destilliertem Wasser in der Regel nur ein Keimschlauch austritt (Taf. I, Fig. 2), wirkt die Bernsteinsäure dahin, daß meist 2—3 Schläuche gleichzeitig austreten. Diese Schläuche sind dünner wie diejenigen in reinem Wasser. (Taf. II Fig. 11.).

Ganz besonders auffällig sind die großen reich verzweigten Blasenkeimlinge, die bei 14° C. in der 0,25% B. S. haltigen Bierwürze auftraten. Zuerst sind die Blasen kugelrund und erreichen den 4—5fachen Durchmesser der Basidienspore. Gleichzeitig treten an beliebigen Stellen der Blase mehrere Keimschläuche aus, die zahlreiche Seitenäste treiben und ein korallenförmiges Aussehen haben. (Taf. II, Fig. 5a und Textfig. 9)

Kontroll-Versuch mit denselben Sporen in derselben Nährlösung bei 26° C. zeigten, daß ähnliche Bilder mit allerdings

nicht ganz so großen Blasen und etwas weiter fort entwickelt nach 11 Tagen auftraten (Taf. II, Fig. 6) und Textfig. 8, während die bei 14° C. gebildeten Keimlinge 22 Tage gebraucht haben.

Bei 18° C. hatten sich nach 20 Tagen in 0,25% B. S. haltigen Bierwürze Mycelien mit langen Fäden von ganz gradem Verlauf gebildet mit typischer Knoten-Verzweigung, aber ohne Schnallenbildung. (Textfig. 14, 3, 4, 6.)

XI. Über die Fortentwicklung des Keimmycels im hängenden Tropfen.

Die normale Fortentwicklung des Keimmycels erfolgt bei optimaler Temperatur nur wenige Tage, nachdem die Keimung eingetreten ist. Durch Verwachsung der Keimfäden erstgekeimter Sporen entsteht dann ein Mycelnetz, während die Fortentwicklung der Keimschläuche nachgekeimter Sporen von vornherein nahezu vollständig gehemmt ist. Die Textfigur 1 zeigt die ersten Stadien der Netzmycelbildung, 6 Tage nach der Aussaat, einen Tag nach Beginn der Keimung in Malzextraktlösung bei den den erstgekeimten Sporen.

Daß die Fortentwicklung aus bestimmten Hemmungsgründen nur wenige Tage anhält, läßt sich am besten verfolgen, wenn man die aus einzelnen früh gekeimten Sporen entwickelten Schläuche bei isolierter Lage mehrere Tage verfolgt. Die Ergebnisse sind jedesmal durch die Zeichnung fixiert worden. Eine derselben ist in der Textfigur 3 dargestellt. Man sieht, daß der junge Keimschlauch (3a) nur am ersten Tage fortgewachsen ist (3b), am zweiten Tage dieselbe Länge hat (3c), sein Wachstum also nicht mehr fortsetzt. Ähnliche Bilder, bei denen die Größe, die das Keimmycel erreicht, natürlich erheblich variieren kann, sind immer wieder beobachtet.

Auch das erst gebildete Netzmycel kann seine Entwicklung nur wenige Tage ungehemmt fortsetzen, dann tritt alsbald völlige Wachstumshemmung ein und nach einer gewissen Zeit beginnt eine Art von Desorganisation, die oft darin besteht, daß die Mycelien vergehen, indem sie ihren Inhalt in bestimmte Abschnitte des Systems zusammenfließen lassen (Textfig. 4a). Diese pflegen dann durch stark lichtbrechenden Inhalt auffällig hervorzutreten. Von diesen Stellen können dann bei Übertragung in neue Nährtropfen Neubildungen ausgehen, wobei aber eine Reduktion des Mycelvolums zu erfolgen pflegt. In der Textfigur 4b ist eine solche aus gehemmtem Mycel getriebener Endverzweigung, deren Stiel mit Kalkoxalatkrystallen bedeckt ist, gezeichnet, im Vergleich dazu ein entsprechendes

Fig. 3.
Entwicklung und Hemmung eines Keimschlauches im hängenden Tropfen. Vergr. 500.
a) am 6 2.
b) am 7. 2.
c) am 8. 2 Entwicklung gehemmt, während andere Schläuche sich noch verlängern.
In Düngerextr. mit 0,1% Bernsteinsäure.

Zweigsystem des Keimmycels von normalem Aussehen (Textfig. 2.)

Sofern es sich um vereinzelte aus einer Spore erwachsene Mycelien handelt, treten die Hemmungserscheinungen noch deutlicher und in anderen Formen auf, je nach der Art und dem Grad der Hemmungswirkung. Meist sieht man klein gebliebene Mycelien mit stark lichtbrechendem Inhalt, die in diesem Zustand ange Zeit bestehen bleiben (Tafel III, Figur 16—19, I 4 a u. b.) Oft beginnen abgegrenzte Abschnitte der Endzweige zu vergehen. In anderen Fällen wachsen die Hyphenenden noch längere Zeit mit immer mehr abnehmender Geschwindigkeit fort, wobei sich das Volum entsprechend verkleinert, so daß scharf zuge-

Fig. 4.
Erneuerungsmycel in erschöpfter Tröpfchenkultur nach Zusatz neuer Nährlösung. (Vers. K. 1, 60.) Vergr. 500. 6 Wochen nach der Aussaat bei 26°.
a) ein abgegliedertes Mycelstück treibt aus.
b) weiter entwickeltes Zweigsystem, Stiel mit Kalkoxalat-Krystallen bedeckt.

spitzte Endzweige zustande kommen (Textfig. 5). Eine gegensätzliche Art der Hemmung besteht darin, daß die im Längenwachstum gehemmten Hyphenkegeln sich verbreiten und nach

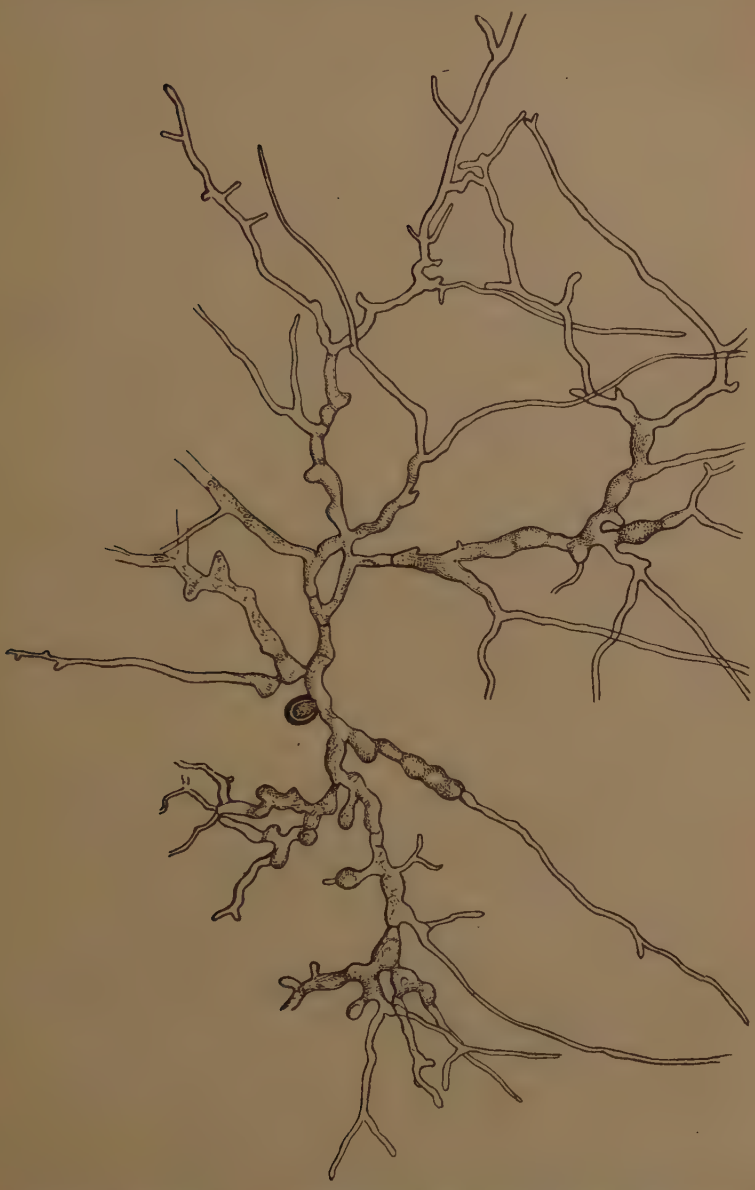


Fig. 5.
Gehemmter Keimling. Erstkeimung im Düngerextr. Nach 30 Tg. bei 26°. Sporen mit 0,8% Bernsteinsäure vorbehandelt. Vergr. 500.

kurzer dichotomer Verzweigung das Wachstum einstellen (Textfigur 7), anscheinend bedingt durch Nahrungsmangel.

Im Vergleich zu den gehemmten Mycelien sind in den Text-

figuren 8—10 normale aus einer Spore entwickelte Keimmycelien in verschiedenen Größen und Entwicklungsstadien abgebildet. Sie zeigen, daß sich beim Champignon große Mycelien aus einer Spore herleiten lassen, daß es hier also einer Verschmelzung

Fig. 6.
Gehemmte Keimlinge, von Nachkeimungen im Düngerextrakt. Nach 30 Tg. bei 26°. Sporen mit 0,8% Bernsteinsäure vorbehandelt. Vergr. ca. 500.

von Mycelien verschiedener Sporen zur Fortentwicklung anscheinend nicht bedarf. Die Keimblasenbildung tritt in diesen Fällen auffällig hervor.

Eine normale Fortentwicklung des Keimmycels ist im hängenden Tropfen nur beobachtet worden, wenn man die

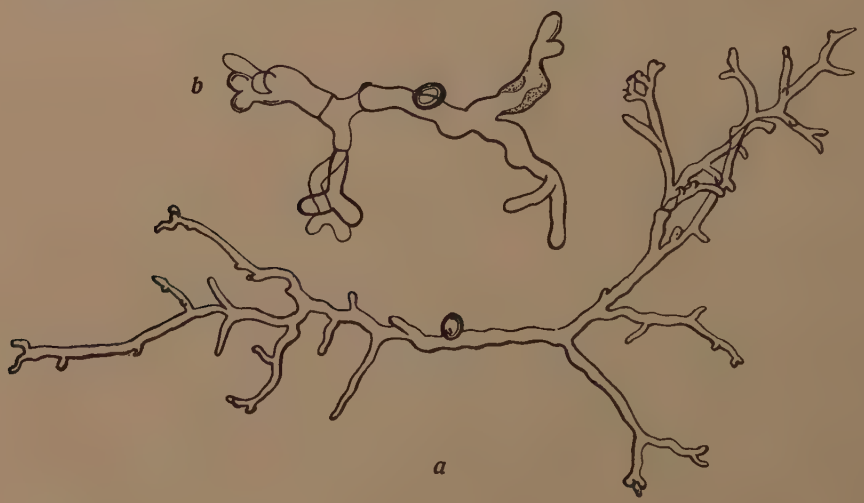


Fig. 7.
Gehemmte Keimlinge in dest. Wasser mit Zusatz von Säure. Vergr. ca. 500.
a) nach 7 Tg. in 0,8% Apfelsäure. Erstkeimung,
b) nach 17 Tg. in 0,1% Bernsteinsäure, Nachkeimung (obenschwimmend).

Kultur unterbricht, also das Gläschen von Zeit zu Zeit abhebt und neue Nährlösung zufügt, wobei auch Lufterneuerung eintritt. Dann vollzieht sich im hängenden Tropfen der Übergang vom primären zum sekundären Mycel, wie er in meinen früheren Arbeiten, insbesondere beim echten Hausschwamm*) eingehend beschrieben worden ist. Dieser Übergang dokumentiert sich äußerlich dadurch, daß das bisher richtungslose und nur im Flüssigkeitstropfen wuchernde Keimmycel Ausläufer bildet,

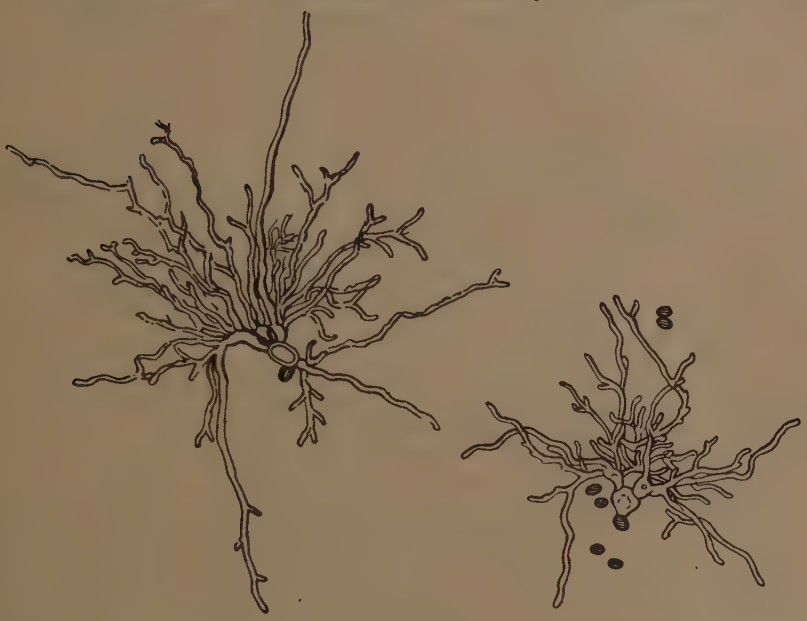


Fig. 8.
(Ungehemmte Keimlinge aus je einer Spore entwickelt. Blasenkeimung oben schwimmend). Vergr. ca. 250. Nach 11 Tg. bei 26° in Malzextrakt-Lösung unter Zusatz von 0,25% Bernsteinsäure.

die unter Volumvergrößerung gradlinig fortwachsen, aus dem Tropfen heraus treten und außerhalb desselben durch regelmäßige Bildung von Knoten und Internodien die Form der Haupthyphen des Oberflächenmycels annehmen. Einen kleinen Abschnitt aus dem Rande eines Tropfens, in dem sich dieser Übergang zum Oberflächenmycel vollzieht, ist in der Textfigur 12 dargestellt. Drei auslaufende Fäden sind angeschwollen, haben sich gerade gerichtet und sind über den Tropfenrand herausgetreten; ein vierter Faden steht im Begriff es zu tun. Innerhalb des Tropfens senden diese Hauptfäden rhizoidenartige Ver-

*) Die Meruliusfäule des Bauholzes von Dr. Richard Falck in Hausschwammforschungen. 6. Heft. S. 56—63. Gust. Fischer, Jena 1912.

zweigungen aus, die sich in Größe und Verlauf deutlich vom Hauptfaden unterscheiden, während die eigentlichen Keimmycelien noch keine solche Differenzierung aufweisen. Wir erhalten dieselben Bilder bei den späteren Agar-Kulturen des Oberflächenmycels, in denen die den Haupthyphen ensprechenden Supstratfäden im Agar dicht unter der Oberfläche fortwachsen.

Die aus dem hängenden Tropfen herausgetretenen Faden-

Fig. 9.
Üppig entwickeltes Keimmycel aus einer Spore mit großer Keimblase. Erstkeimung. Vergr. 125. Nach 28 Tg. bei 14° in Malzextrakt-Lösung mit Zusatz von 0,25% Bernsteinsäure.

teile zeigen zwar schon die Gliederung in Knoten und Internodien, aber noch keine Schnallen.

Die genauere Analyse der noch in Flüssigkeit verlaufenden Teile der genannten Fäden läßt 3 verschiedene Typen unterscheiden, die in der Textfigur 11 nebeneinandergestellt sind; zunächst die Fäden des primären Mycels (Textfig. 11a): dünnfädig, unregelmäßig verzweigt und verbogen, ohne bestimmte Wachstumsrichtung. Sodann die submersen Haupthyphen, fast gradlinig verlaufend und mit großem Volum (11b), schließlich

einzelne Fäden mit starren Membranen und vergrößertem Volum vom Charakter unentwickelter Gefäßhyphen (11c).

Die Verzweigungsart an älteren und jüngeren Teilen der submersen Fäden, sind (an den der Textfig. 12 entsprechenden Stellen) in der Textfig. 13 bei stärkerer Vergrößerung besonders dargestellt.

Nur in ganz vereinzelten Fällen sind Schnallen an den entstehenden Haupthyphen nachgewiesen worden, ein solcher noch nicht zur normalen Volumgröße entwickelter Faden mit einer Schnalle ist in Fig. 14 dargestellt.

Fig. 10.
Ungehemmtes Keimmycel aus einer Spore neben vielen ungekeimten Sporen. Erstkeim. vom Tröpfchengrund. Vergr. 250. Nach 10 Tg. bei 26° in Düngerextrakt mit Zusatz von 0,25% Bernsteinsäure.

Auch die hier beschriebenen Hauptfäden des submersen Oberflächenmycels erleiden, wenn sie in dem hängenden Tröpfchen der geschlossenen Kammer zu lange verbleiben, Desorganisationen verschiedener Art. Oft kommt es zu unregelmäßigen Anschwellungen und Verbildungen; ein besonders auffälliger Fall dieser Art ist in der Figur 15 dargestellt.

Zur weiteren Übertragung auf Agarsubstrat zwecks Züchtung der Mycelien sind von uns immer nur solche Kulturen verwendet worden, die sich im Zustande des Überganges zum sekundären Mycel befinden, oder dazu bereits vorgeschritten sind. An den beschriebenen Charakteren läßt sich dieser Zustand leicht bestimmen.

D. Charaktere der Keimung.

XII. Zur Morphologie der Keimung.

Der Inhalt der gekeimten Sporen ist zumeist völlig entleert (Tf.-Fig.), die Durchsichtigkeit ist dadurch erhöht, aber die Färbung selbst kaum verändert. In einigen Sporen verbleiben in manchen Fällen kleine runde Körnchen, welche die Brownsche Molekularbewegung zeigen. Im übrigen bleibt Form und Größe der Sporen bei der Keimung ganz unverändert.

Der Austritt des Schlauches erfolgt an beliebigen Stellen, meist an einem der Pole, oft auch seitlich, sehr selten an dem Zäpfchen (der früheren Ansatzstelle der Spore am Sterigma). Oft entstehen 2, unter besonderen Bedingungen auch 3 Keimschläuche, 4 sind noch nicht beobachtet. Die Schläuche treten

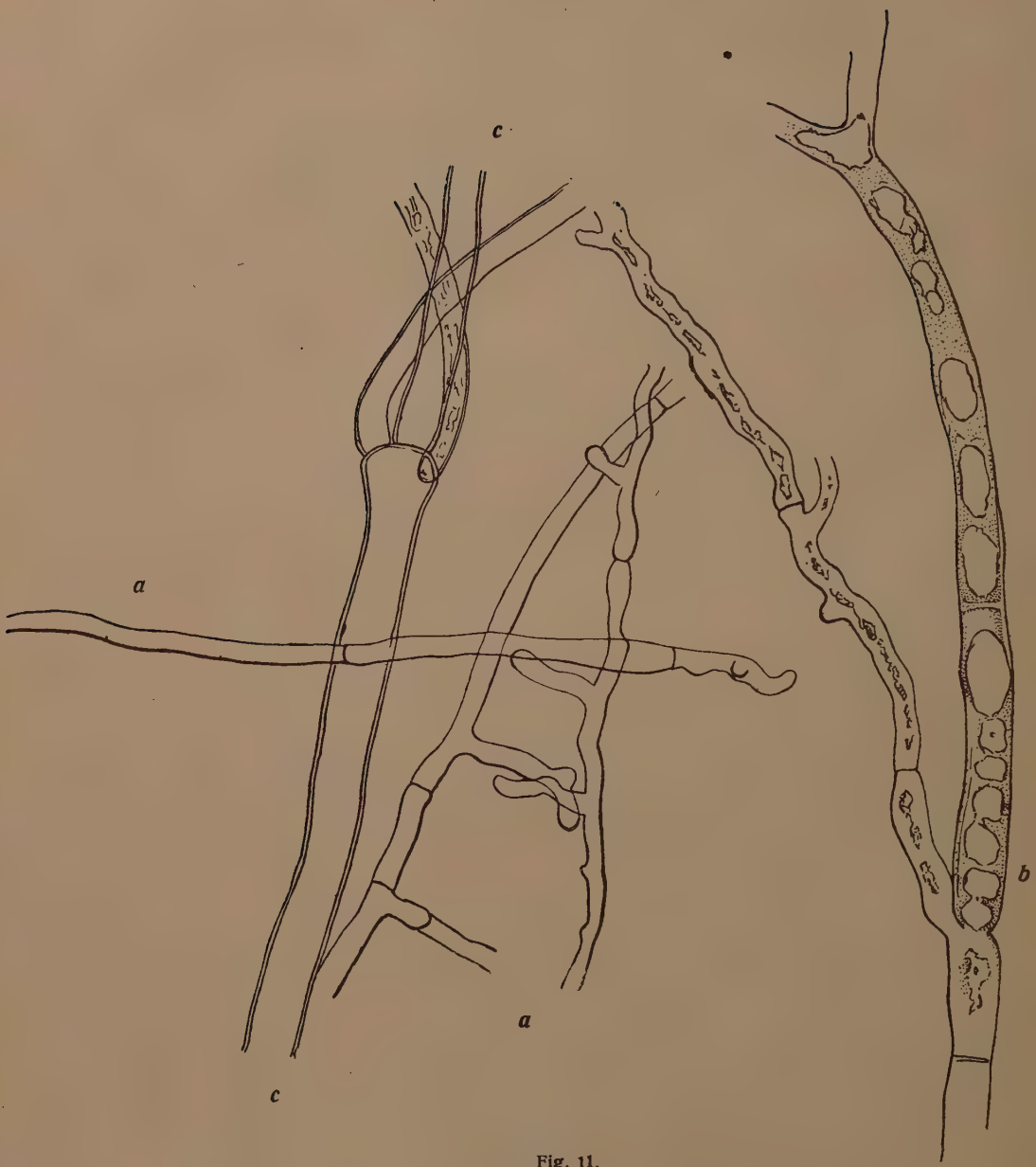


Fig. 11.

Mycel-Differenzierungen in älterer ungehemmter Tröpfchenkultur. Vergr. ca. 1200. Sporen am 3. 3. in Malzextrakt-Lösung und 0,25% Bernsteinsäure gesät. Am 13. 3. in neue Extraktlösung übertragen. Nach weiteren 14 Tagen bei 26°:

a) üppiges Netzmycel, den Tropfen erfüllend:
b) dazwischen breitere Hauptfäden;
c) gefäßhyphenartige Differenzierung.

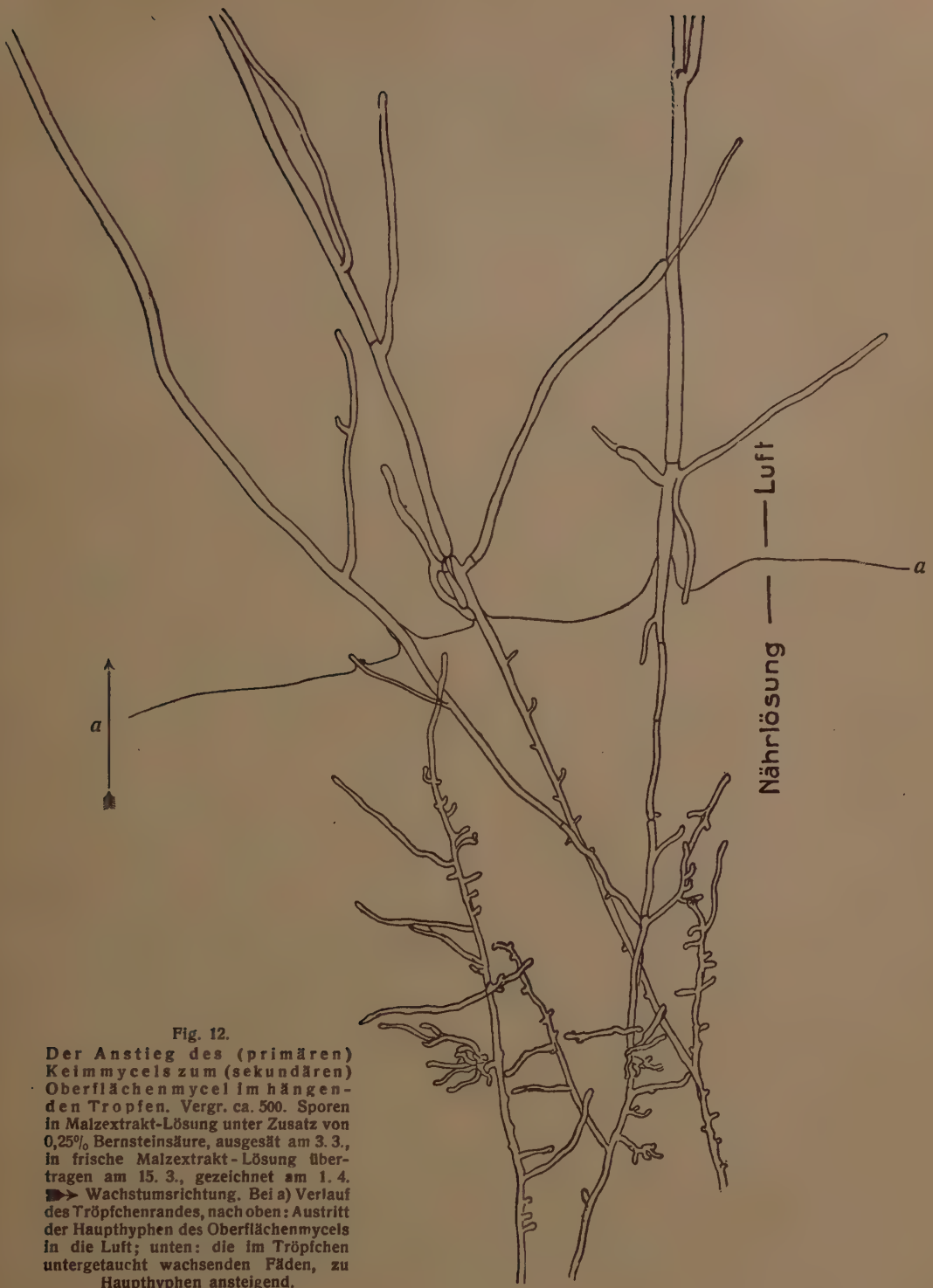


Fig. 12.
Der Anstieg des (primären) Keimmycels zum (sekundären) Oberflächenmycel im hängenden Tropfen. Vergr. ca. 500. Sporen in Malzextrakt-Lösung unter Zusatz von 0,25% Bernsteinsäure, ausgesät am 3. 3., in frische Malzextrakt-Lösung übertragen am 15. 3., gezeichnet am 1. 4. ➡ Wachstumsrichtung. Bei a) Verlauf des Tröpfchenrandes, nach oben: Austritt der Haupthyphen des Oberflächenmycels in die Luft; unten: die im Tröpfchen untergetaucht wachsenden Fäden, zu Haupthyphen ansteigend.

meist gleichzeitig an verschiedenen Stellen auf. (Fig. 1b, 11.) Die Lage der Keimstellen zueinander ist anscheinend ganz willkürlich, sie können dicht zusammenliegen (Fig. 9, 11), oder an entgegengesetzten Stellen (Fig. 1b) oder der eine am Pol, der

Fig. 13.
Die Differenzierung des Mycels am Tröpfchenrande von Fig. 12 bei stärkerer Vergrößerung. 1200.
a) untergetauchter Hauptfaden, zahlreiche Seitenzweige in die Nährlösung treibend;
b) desgl. wie a, etwas weiter rückwärts mit wurzelartig fortgebildeten Zweigenden;
c) an die Luft herausgetretener Hauptfaden mit Kegel und jüngster Scheidewand.

andere an der Seite, oder beide an den Seiten (Fig. 6) austreten, was besonders merkwürdige Bilder gibt. Wenn drei Schläuche gebildet werden, ist ihre Lage zueinander ebenfalls unbestimmt, wodurch erst recht wechselvolle Bilder entstehen. Die Schläuche sind in der Regel gleich groß ausgebildet, es kommt aber auch vor, daß einer bevorzugt ist. (Fig. 1b). Auch das Austreten erfolgt bei mehreren Schläuchen in der Regel gleichzeitig. Selten erscheint einer der Schläuche etwas später und ist dementsprechend verkürzt. An der Ansatzstelle des Keimschlauches ließ sich der Keimporus in einzelnen Fällen bei geeigneter Lage und stärkerer Vergrößerung als feiner enger Kanal in der Sporenwand besonders deutlich erkennen. (Fig. 11 Aufsicht und 1b.)

Was nun die Form des austretenden Schlauches betrifft, so finden wir hier ebenfalls so weitgehende Variationen, wie sie bei anderen Sporen kaum vorkommen. Man kann folgende Formtypen unterscheiden, die den Umfang der Variationen aber noch nicht erschöpfen und sich bei weiterer Abänderung der Bedingungen noch weiter vermehren lassen werden.

Schlauchkeimung (normale Bildung).

Unter normalen Verhältnissen (in neutralen oder sehr schwach sauren Lösungen) tritt zunächst ein Keimbläschen aus, das sich alsbald allseitig vergrößert, bis das normale Volum der Schläuche (etwa Sporengröße) erreicht ist. Wächst das Bläschen dann nur noch an der Spitze fort und zwar in derselben Richtung, in der es aus der Spore herausgekommen ist, so wird ein normaler Keimschlauch gebildet, der gradlinig weiterwächst (Fig. 23 auf Tafel IV). Nun kommt es aber häufig vor, daß der Verlauf des Keimschlauches

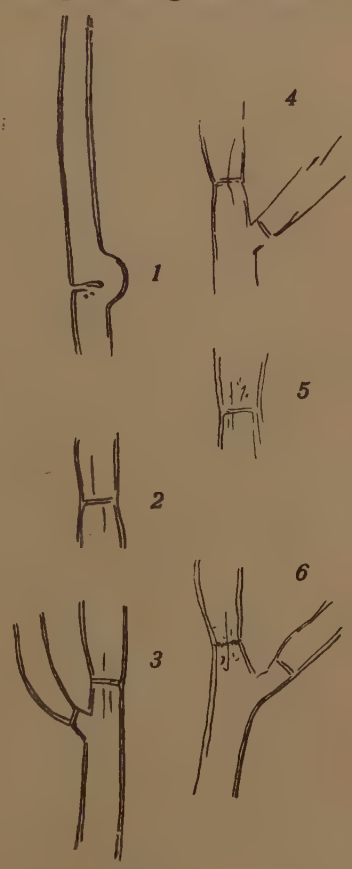


Fig. 14.
Die ersten 6 Nodien (1—6) eines Hauptfadens vom Oberflächenmycel, an dessen oberster (jüngster) Scheidewand eine Schnalle entstanden ist; Vergr. 1200. Im hängenden Tropfen in Malzextrakt-Lösung mit Zusatz von 5,0% Bernsteinsäure nach 31 Tagen bei 26°.

zur Spore ein tangentialer ist, wie das schon in den ersten Fig. 1 und 3 der Tafel 1 zu sehen ist. Das spricht schon dafür, daß das Keimbläschen sich anders verhält, wie ein beliebiger anderer Fadenkegel, der nur an der Spitze in derselben Richtung fortwächst. Das Keimbläschen kann aber auch sofort 2—3 Schläuche bilden, die sich fadenförmig fortsetzen; dann entstehen Keimbilder, wie sie die Fig. 17 und 9 darstellen. Diese Bilder weisen ebenfalls darauf hin, daß das Bläschen ein besonderes Stadium darstellt, da sich der Kegel der späteren Schläuche niemals in dieser Art verzweigen kann.

Blasenkeimung.

Unter besonderen Bedingungen, besonders bei einem gewissen Säuregehalt in zuckerhaltiger Nährlösung, werden die Keimblasen wesentlich größer als die Ausgangssporen und es entstehen dann Keimbilder ganz veränderter Art, wie sie besonders in den Fig. 5 und 6 (Tafel 2) abgebildet sind. In den Textfig. 8 und 9 sieht man, daß die Keimblasenbildung sich noch ein oder zweimal wiederholen kann, indem die erste Keimblase mehrere blasenförmige Keime bildet, die ihrerseits dann erst zur Fadenbildung übergehen. Wenn die Blasen auskeimen, treiben sie wie die Sporen an beliebigen Stellen 1—3 Keimschläuche, die sich unmittelbar an den Blasen in abenteuerlichen Formen verzweigen können (Taf. Fig. 5 und 6).

Unter bestimmten ungünstigen Entwicklungsbedingungen erreicht die Keimblase höchstens die Größe der Basidiensporen und ist mit plasmatischem Inhalt

Fig. 15.
Umbildung und Desorganisation eines Hauptfadens. Die am 3. 3. ausgesäte Kultur wurde am 15. 3. in Malzextrakt-Lösung übertragen. Am 27. 5. gezeichnet. Bis dahin ohne Erneuerung im hängenden Tropfen bei 26°.

prall gefüllt, ohne sich weiter entwickeln zu könnnen (Fig. 22). Da nur die Keimbläschen, nicht aber die späteren Schläuche ihr Volum beliebig vergrößern können, muß das Bläschenstadium auch aus diesem Grunde als besondere morphologische Bildung betrachtet werden.

Stäbchenkeimung.

Bei stärkerer Hemmung des Mycelwachstums kann auch das Gegenspiel der Blasenkeimung eintreten, indem der Keimling in Form eines sehr dünnen Fadens austritt. Hier vermag die Keimblase nicht zum normalen Sporen-Volum anzuschwellen und der auswachsende Faden bleibt auf den Durchmesser großer Stäbchenbakterien reduziert. Eine Fort-Entwicklung solcher Bildungen ist nicht beobachtet worden. (Taf. II, Fig. 10.)

Amöboidkeimung.

Eine besondere Art der Blasenkeimung entsteht, wenn die Keimblase sich unregelmäßig verbreitet und mehrere kleine Fortsätze treibt, die sich zunächst nicht oder nur gehemmt fortentwickeln. Dann entsteht ein amöbenartiger Keimling, den man tagelang in demselben Stadium verharren sieht. (Fig. 17 Amöboidkeimung). Verlängern sich einige Äste etwas weiter, indem sie ihrerseits kleine Zweiganlagen dicht beieinander bilden, dann entstehen Bilder, wie sie die Fig. 18 und 19 zeigen. Die Amöbenkeimung entsteht bei stärkerer Hemmung in saurer Lösung.

Zwergkeimung.

Ist die Hemmung bei dieser Art der Keimbildung sehr stark, dann treibt das anfangs entstandene kleine Bläschen nur 1—2 verdünnte Fortsätze, die oft kommaförmig abgebogen sind und sich in der Regel nicht weiter fortentwickeln (Fig. 10 und 12). Wo dies im geringen Umfang geschieht und einzelne Keimschläuche sich kurz verlängern, entstehen Bildungen, wie die Fig. 20 zeigt. Andere Keimbläschen bilden 2—3 Fortsätze, die sich um ein Geringes weiterverlängern. (Fig. 9.)

Eine andere Art der Zweigkeimung, die dem amöboiden Keimungsbild wohl nahe steht, besteht in der Bildung eckiger Keimbläschen (Fig. 7), oft mit gipfelförmiger Ausbuchtung.

Der besondere Charakter der Sporenkeimung des Champignons liegt hiernach in gestaltlicher Hinsicht einmal in dem Keimbläschenstadium, das in veränderlicher Gestaltung der Schlauchbildung vorgeschaltet ist; sodann darin, daß die Spore 1—3 solcher Keimbläschen an beliebiger Stelle bilden kann. Beide Momente bedingen die Vielgestaltigkeit der

jungen Keimlinge, die in den Bildern und Beschreibungen dieser Arbeit zum Ausdruck kommt.

XIII. Zur Physiologie der Keimung.

1. Der Einfluß der Nährlösung auf die Gestaltung.

Auf unseren Tafeln sind die unter verschiedenen Bedingungen erhaltenen verschiedenartig gestalteten Keimlinge abgebildet. Keimungen, die sich in der Form gleichen oder nahe stehen, sind dabei möglichst zusammengestellt. Auch ist darauf Wert gelegt, durch Zeichnung natürlicher Gruppen den Charakter des Keimungsbildes umfassender darzustellen.

Die 4 Tafeln zeigen uns, daß wir unter den Bedingungen des Nährtropfens in geschlossenen Kammern im wesentlichen 4 Gestaltungs-Typen unterscheiden können, die sich auf 2 verschiedene physiologische Einstellungen und Einwirkungen in der Nährlösung zurückführen lassen:

a) Die Vorkeimenden und die Gehemmten. Die ersteren sind mehr oder weniger weit fortentwickelt, während die letzteren von Anfang an gehemmt sind und meist nur kurze oder irgendwie reduzierte Schläuche haben. Die Hemmung ist offenbar bedingt teils durch den Verbrauch der notwendigen Nährstoffe durch die Erstgekeimten, teils durch die Ausscheidung schädlicher Stoffwechselprodukte, die sich in dem engen Raum des hängenden Tropfens schnell konzentrieren. Bringt man Nachkeimende noch rechtzeitig in neue Nährlösung, dann können sie zu ungehemmter Entwicklung gelangen.

b) Die Neutralkeimung und die Säurekeimung. Einen weiteren grundsätzlichen Einfluß hat die Reaktion der Nährlösung. In neutralen Lösungen sehen wir Schlauchkeimlinge mit langen, wenig verzweigten Fäden, in sauren Lösungen Blasenkeimlinge mit vermehrter Verzweigung. Erstlinge in neutraler Lösung zeigt Taf. I, in saurer Lösung Tafel II oberste Fig. 5 und 6. Gehemmte Nachkeimungen in saurer Lösung Taf. III, ohne Säurewirkung Taf. IV, sehr starke Hemmungen zeigen die Bilder Fig. 7, 10, 12, 13 und 21.

2. Die Keimdauer und die verschiedene zeitliche Einstellung der Sporen.

Bei den vorliegenden Ergebnissen fällt zunächst auf, daß da, wo Keimung eintritt, dies erst nach verhältnismäßig sehr langer Zeitfrist geschieht. Nach 4 Tagen war bei einer dem Optimum naheliegenden Temperatur im Versuch 36 der

Reihe K 1 noch keine Keimung beobachtet, nach 5 Tagen war bereits eine erhebliche Zahl gekeimt und nach 6 Tagen wurde die Keimung von 25% der ausgesäten Sporen festgestellt.

Auch in den folgenden Versuchsreihen findet sich kein Versuch, in dem vor 4 Tagen bei 26° C eine Keimung beobachtet wurde.

In den zusammenfassenden Tabellen 5, 6 der Arbeit von Ferguson sind die ersten Keimungen — meist 1 bis wenige Sporen — immer erst nach 9 Tagen, erheblichere Keimzahlen nach 21 Tagen bei 28° C verzeichnet. In der Tabelle 7, welche die besten und schnellsten Keimungen bei Einwirkung des lebenden Champignonmycels verzeichnet, sind erst nach 144 Stunden (= 6 Tagen) Keimungen eingetragen.

Wir haben bei 24° unter denselben Bedingungen die ersten Keimungsstadien schon nach 4 Tagen beobachtet.

Wir müssen hiernach annehmen daß mindestens 4—5 Tage bei optimaler Temperatur und unter günstigsten Bedingungen erforderlich sind, um die Keimung der Erstlinge herbeizuführen.

Dieses Ergebnis wird erst in das rechte Licht gesetzt, wenn wir es mit der Keimgeschwindigkeit der Sporen anderer Arten und Gattungen aus der Familie der Fallträgerpilze (Basidiomyceten) in Vergleich setzen. Die meisten Pilzsporen sind in günstiger Nährlösung bei optimaler Temperatur in 12 Stunden gekeimt, also in dem zehnten Teil der Zeit, welche die Champignonsporen gebrauchen. Es gibt aber auch dunkelfarbige Sporen aus der Klasse der Brandpilze (Ustilagineen), einer Unterklasse der Fallträgerpilze (Basidiomyceten), die noch viel schneller auskeimen. Um hier auf Grund eigener Untersuchungen ein vergleichendes Bild zu geben, führe ich nachstehende Keimzeiten der verschiedenen Getreide-Brandsporen an. Sie zeigen, daß in den Keimfristen, d. h. in der Zeit, die von der Aussaat bis zum Eintritt des Keimschlauches bei optimaler Temperatur verläuft, ein wichtiger keimphysiologischer Faktor gegeben ist.

Die Sporen des Testa-Brandes der Gerste (Ustilago Jensenii) von der Ernte bis 1. Februar trocken aufbewahrt) keimten in Tröpfchenkulturen (nach Brefelds Methode angesetzt) in der Zeit von **3** Stunden:

1. bei 18° C die meisten Sporen gekeimt;
2. bei 26° C totale Keimung mit entwickeltem Promycel;
3. bei 30° C die meisten Sporen gekeimt, gegenüber 26° C gehemmt.

Ähnlich wie die Sporen des Testa-Brandes verhalten sich

die von Ustilago Sorghi sacharati, des Brandes der Zuckerhirse, nur daß das Optimum hier bei höherer Temperatur gelegen ist.

In der Zeit von **3** Stunden keimten:

1. bei 18° C noch keine Keimung;
2. bei 26° C eine Anzahl von Keimungen (etwa 8%);
3. bei 30° C die meisten gekeimt.

Die Sporen der übrigen wichtigen Brandarten des Getreides keimen bei optimaler Temperatur noch nicht in 3 Stunden.

Nach **6** Stunden keimen die Sporen des Haferbrandes (Ustilago Avenae), aber noch nicht die übrigen von mir untersuchten Getreidebrandformen, nach **18** Stunden hatten gekeimt der Flugbrand des Weizens und der Gerste, ebenso der Brand von Setaria (Ustilago Setariae), von Rispenhirse (Ustilago Panici miliacei) und der Maisbrand (Ustilago Maydis), noch nicht gekeimt nach **24** Stunden hatten die Sporen des Weizenstinkbrandes (Tilletia Titrici).

Diese Angaben zeigen, daß schon innerhalb der Artengruppe einer Gattung und Klasse die Keimzeitzahlen erheblich variieren können. Während noch viele Beispiele für schnell keimende Sporen besonders in der Klasse der Mucorinen und der Schimmelpilze angeführt werden können, ist bisher kein Pilz bekannt geworden, der eine so lange Keimzeit aufweist, wie sie hier für die Champignonsporen festgestellt wurde. Auf diesen Umstand ist es wohl auch in erster Linie zurückzuführen, daß die Keimversuche mit Champignonsporen zumeist ergebnislos verliefen. Wenn man 4 Tage nach der Aussaat bei optimaler Temperatur von 26° noch keine Keimung sieht, glaubt man nach den bisherigen Erfahrungen auf ein positives Ergebnis nicht mehr rechnen zu können. Nun sind Erstkeimungen nach 4 Tagen auch noch eine Seltenheit, meist sind sie erst — wie dies Fergusons Tabellen zeigen — am 9. Tage bei 28° zu beobachten. Nach Brefelds Arbeitsmethode in offenem Tröpfchen können die Beobachtungen ohne Störung durch Verdunstung (und Verunreinigung) bei so hoher Temperatur so lange Zeit kaum erfolgreich durchgeführt werden.

Auffällig ist ferner die ungewöhnliche Breite des Zeitraumes, innerhalb welches bei optimaler Temperatur (26° C) noch Nachkeimungen auftreten können. Wenn wir die Tröpfchen nach 9, 12, 15, 18 und 21 Tagen nachsehen, können immer noch nachkeimende Sporen beobachtet werden. Deshalb hat Ferguson ihre Versuche erst nach 9 und 21 Tagen nachgesehen In ihrer Tabelle VII sind von 4 Tröpfchen-Versuchen nur in einem Keimungen im neutralen Dünger-Extrakt aufgetreten und zwar:

nach 10 Tagen bei 28° 3 Sporen gekeimt
„ 13 „ „ „ 3 „ „
„ 16 „ „ „ 99 „ „

Die Sporen lagen also 16 Tage lang in der Nährlösung bei optimaler Temperatur ohne zu keimen. Dann erfolgte auf einmal die Nachkeimung zu 99%. In anderen Fällen sind noch erheblich längere Zeiträume festgestellt. So langfristige Keimverzögerungen unter optimalen Wachstumsverhältnissen und ohne Beeinträchtigung der Keimprozente sind bei anderen Sporen m. W. noch nicht beobachtet.

Wir sahen aber schon, daß wir die Keimzeit insbesondere für die nachkeimenden Sporen bis zu einem gewissen Grade durch äußere Einflüsse abkürzen können. So waren in der angeführten Versuchsreihe bei Einwirkung arteigner sowie bestimmter andersartiger Mycelien schon nach 6 Tagen die Sporen zu 98% ausgekeimt. Es könnte scheinen, als hätten wir es hier mit zwei physiologisch verschiedenen Sporenarten zu tun, von denen die einen, in geringer (sehr wechselnder) Zahl vorkommenden, verhältnismäßig schnell auskeimen und dies auch in jeder neutralen Flüssigkeit tun — die Vorkeimer —, während die übrigen erst später nachfolgen und anscheinend nur durch bestimmte im Substrat einwirkende Stoffe (also durch Anregungen von außen her) zur Keimung gelangen. Die in dieser Arbeit beschriebenen „Erstkeimungen", leiten sich von Sporen der erstgenannten Art nur insoweit ab, als es sich um Keimungen in neutralen Lösungen handelt, während es sich bei den „Nachkeimungen" wohl immer um Sporen der letztgenannten Art handelt.

Ich möchte die Erstkeimenden aber nur als Varianten auffassen, welche die Keimungshemmung in geringstem Grade besitzen, denn schon die erhebliche zeitliche Variationsbreite der Keimung im Ganzen kann nur auf die verschieden stark ausgebildete Einstellung bei den einzelnen Sporen zurückgeführt werden.

Die Frage, welche Ursachen und Einrichtungen es den Pilzsporen ermöglichen, die Keimzeit je nach Bedürfnis zu verlängern, soll hier nicht erörtert werden. Dafür fehlen uns zurzeit noch alle tieferen Einsichten in Bau und Chemismus der Keimvorgänge. Nur die Beziehung dieser speziellen physiologischen Einstellung zu den besonderen Lebensverhältnissen ergibt wertvolle Fingerzeige für das Lebensbild dieses Pilzes.

3. Die Säureeinstellung.

Nach den Feststellungen im Abschnitt X kann es nicht zweifelhaft sein, daß sowohl die Vorbehandlung der Sporen in säurehaltiger Flüssigkeit, wie auch der Zusatz organischer Säuren

zur Nährlösung, die Keimung der Sporen auslösend oder begünstigend beeinflußt.

Von den organischen Säuren, die geprüft wurden, erfolgte in Essigsäure keine Keimung, bei Milchsäure nur in sehr engen Konzentrationen. Beide Säuren haben gegen Fadenpilze gewisse Giftwirkungen. Aepfelsäure und Bernsteinsäure waren wirksamer, die letztere wurde in Nährlösungen am besten vertragen. Neben der Konzentration ist bei der Vorbehandlung der Sporen die Zeit der Einwirkung sowie die Temperatur von Bedeutung. In Nährlösungen werden nur erheblich niedrigere Konzentrationen vertragen, wie bei der Vorbehandlung; und die Vorbehandlung verträgt stärkere Säure, wenn dieselbe nur verhältnismäßig kurze Zeit einwirkt.

Nun muß aber berücksichtigt werden, daß auch in neutralen Lösungen, sogar in reinem destilliertem Wasser, einzelne Sporen keimen können. Um diese Tatsache mit den obigen Feststellungen in Einklang zu bringen, wollen wir berücksichtigen, daß die Säureeinstellung der einzelnen Sporen ebenso wie dies für die zeitliche Hemmung zutraf, in bezug auf die erforderliche Säurekonzentration gewissen Schwankungen unterliegt, schon in der Art, daß die Keimungszahl der Sporen zunimmt bis das Optimum der Säurekonzentration (ohne schädliche Nebenwirkung) gegeben ist. Die Variation kann eine so breite sein, daß eine gewisse Zahl von Sporen dieser Einstellung auch ganz entbehren. Zeitliche und chemische Hemmung werden schließlich auf denselben Faktor rückführbar sein.

Unerklärt muß es ferner bleiben, daß bei gleichzeitiger Ausführung vieler Versuche derselben Art, sowie bei Wiederholungen immer auch negative Ergebnisse nebenherlaufen, so daß eine völlige Beherrschung und Klarstellung der Bedingungen zur Zeit noch nicht gegeben ist.

Das Ergebnis, daß gewisse Säuren in bestimmten Verhältnissen auslösend oder begünstigend einwirken, bleibt darum aber bestehen. Wir wissen aber noch nicht, ob und in welcher Art eine direkte Einwirkung auf die Sporen erfolgt, oder ob vielleicht nur eine indirekte Begünstigung vorliegt. Bemerkenswert ist es, daß wir bei den Nachkeimungen oft mehr oder weniger totale Keimung eintreten sahen in einer Nährlösung, die keine Fortentwicklung der Keimschläuche gestattet. Wir entnahmen daraus, daß es auslösende oder begünstigende Faktoren gibt, die mit den für die Fortentwicklung der Mycelien nötigen Bedingungen des Substrates nicht zusammenfallen. Die Sporenkeimung erfolgt jedenfalls nicht, wie bei anderen Sporen, wenn die allgemeinen Wachstumbedingungen für Pilzmycelien:

Nahrung, Feuchtigkeit, Zeit und Temperatur in den gewöhnlichen Ausmaßen einwirken, wie die Franzosen es angeben. Es sind vielmehr bestimmte Einstellungen gegeben, die in der verlängerten Keimungszeit in der Wirkung gewisser Säuregrade und anderer noch unbekannter Faktoren zum Ausdruck kommen. In diesen Einstellungen muß der physiologische Charakter der Sporenkeimung erblickt werden

XIV. Zur Biologie der Keimung.

Das wesentlichste Ergebnis der Arbeit von Ferguson besteht in der Feststellung, daß die eigenen Mycelien der Champignons die bei weitem günstigste Wirkung auf den Keimprozeß ausüben.

Dr. Kobayashi hat in meinem Laboratorium die Versuche von Ferguson über den Einfluß des Champignons-Mycels auf die Sporenkeimung wiederholt; hat aber kein positives Ergebnis erzielen können. Er hat nicht bloß lebendes Mycel des Champignons von Agar-Kulturen verwendet, und dieses den Tröpfchen zugesetzt, sondern auch die aus dem Mycel des Champignons hergestellten Enzyme erfolglos geprüft.

Wir haben den Versuch mit lebendem Champignon-Mycel erneut wiederholt und können das Resultut von Ferguson bestätigen. Wir fanden, daß es aber wesentlich darauf ankommt, kräftiges im Wachstum befindliches Mycel zu verwenden. Am besten wirkten die Mycelspitzen der Haupthyphen aus der Zuwachszone einer ungehemmt wachsenden Kultur.

Ferguson hat dann eine Anzahl anderer Mycelien geprüft und gefunden, daß sie keinen Einfluß auf die Keimung ausüben; sie hat daraus geschlossen, daß nur das arteigene Mycel des Champignons für die Auslösung in Frage käme.

Wenn man aber ihre Ergebnisse näher durchsieht, dann findet sich die Angabe, daß in einem Versuch mit Hypholoma appendiculatum über 50% Keimungen erreicht wurden. Ferguson erklärt dies aber als Wirkung der Mycelien vorgekeimter Sporen des Champignons, wie dies ihrer Theorie entspricht.

Im Sinne der im VII. Abschnitt entwickelten Arbeitshypothese wurden im Vergleich mit dem Champignon-Mycel fürs erste nur solche Formem geprüft, die auf den Substraten und unter den Bedingungen der Champignon-Entwicklung in der Natur dem Champignon-Mycel voranzuwachsen pflegen. In erster Linie kamen Coprinus-Arten in Betracht. Da befand sich unter den lebenden Kulturen, die im mykologischen Institut fortlaufend gezüchtet werden, zunächst nur der Coprinus-Porzellanus, der vorzugsweise auf Wiesen vorkommt. Der Pilz war auf Bierwürze-Agar angewachsen und fortlaufend übertragen worden.

Zum Vergleich mit dem Champignon-Mycel standen bei der ersten Versuchsanstellung nur ältere Kulturen ohne fortwachsende Zuwachszone zur Verfügung, im zweiten Versuch wurden auch die Spitzen verwendet.

Unter dem Einfluß der jungen Spitzen waren beim Champignon-Mycel nach 4 Tagen in einem, nach 5 Tagen in drei von 4 Gläschen Keimungen in erheblicher Zahl erfolgt, während das ältere Mycel noch ohne Wirkung blieb.

Die weitere Wirkung nach 9 und 15 Tagen bei 34° C ist aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich. In 3 von 4 Gläschen sind fast alle Sporen unter dem Einfluß des im Tropfen fortwachsenden Oberflächenmycels gekeimt. Doch ist die Weiterentwicklung der Keimschläuche wie bei den früher beschriebenen Nachkeimungen fast völlig gehemmt. In den Tröpfchen mit älterem Champignon-Mycel sind nur in einem von 4 Gläschen geringe Keimprozente aufgetreten.

A. Champignon-Mycel.

	Nach 9 Tagen	Nach 15 Tagen
1. Kultur mit Spitzenmycel	10% Kg	50% Kg meist in d. erst. Stadien Schläuche bis 50% im Keimen 10 μ lang
2. „ „ „	vereinzelte Kg	vereinzelte Kg
3. „ „ „	96% Kg	meist 100%; an einzelnen Stellen des Präparates nur vereinzelte Kg
4. „ „ „	20% „	90%, Schläuche bis 10 μ
1. „ „ älterem Mycel	0 „	0 kg
2. „ „ „ „	0 „	0 „
3. „ „ „ „	0 „	0 „
4. „ „ „ „	5% „	ca. 10% gek.

B. Coprinus-Mycel.

Kulturen mit Spitzenmycel waren nicht vorhanden.

	Nach 9 Tagen	Nach 15 Tagen
1. Kultur mit älterem Mycel	90% Kg	90% Kg Schl. bis 20 μ verzweigt
2. „ „ „ „	0 „	einzelne Kg
3. „ „ „ „	0 „	0 Kg
Bierwürze + 0,2% Bernsteinsäure	0 „	0 „
Bierwürze ohne Zusatz	0 „	0 „

Von den mit dem Coprinus-Mycel angesetzten Gläschen zeigte eins schon nach 5 Tagen ebensoviele Keimungen wie die Kulturen 1, 3 und 4 mit Spitzenmycel vom Champignon, während in zwei anderen Kulturen keine Keimungen eintraten. Das Ergebnis nach 9—15 Tagen zeigt die obige Zusammenstellung. Es beweist, daß auch unter dem Einfluß des Coprinus-Mycels — obwohl kein Spitzenmycel vorliegt, — fast totale Keimung eintritt, und daß die Schläuche sich hier etwas günstiger fortentwickeln wie bei Anwesenheit des Champignon-Mycels.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden Coprinus-Kulturen mit Spitzenmycel angesetzt. Dabei zeigte sich in 3 von 4 Gläschen nach 5 Tagen bei 24° C fast totale Keimung; also ein ebenso günstiges Resultat wie bei den entsprechenden Spitzenkulturen des Champignons. Die Keimschläuche entwickelten sich zuerst günstiger und schneller wie bei den Champignonkulturen. Nach 14 Tagen war die Entwicklung aber gehemmt und die Schlauchspitzen zeigten teilweise schon Desorganisationserscheinungen.

Auch in diesen Mycelversuchen sind wie bei den früheren Versuchen immer Gläschen dazwischen, die ein negatives Ergebnis haben, doch ist der Erfolg sicherer und vollständiger wie bei den Säureversuchen.

Wir sind jetzt zu dem Schluß berechtigt, daß die Annahme von Ferguson, nur die eigenen Mycelien des Champignons hätten Einfluß auf die Sporenkeimung, nicht zutrifft. Wir fassen das Ergebnis im Sinne unserer Arbeitshypothese vielmehr so zusammen:

Es gibt bestimmte Basidiomyceten-Mycelien, die einen keimauslösenden Einfluß auf die Champignonsporen haben. Nach unsrer Hypothese sind das unter natürlichen Verhältnissen solche Arten, die dem Champignon-Mycel bei seiner Entstehung voranzuwachsen pflegen, ohne das Aufkommen des Champignons zu hemmen z. B. bestimmte Coprinus-Arten. Dieser Gedanke hatte zur Prüfung des gerade vorliegenden reinen Coprinus-Mycels geführt, das hier gleich einen vollen Erfolg ergab. Die spezielleren Nachweise mit den in der Natur in Betracht kommenden düngerbewohnenden Arten müssen der Arbeit über die Brutzucht des Champignons vorbehalten bleiben.

Mit dem Nachweis der Wirkung des sekundären Oberflächenmycels ist noch nicht bewiesen, daß auch das primäre Keimmycel in derselben Art wirksam ist. Der gestaltlichen Verschiedenheit beider Myceltypen kann auch eine verschiedene physiologische Einstellung entsprechen, es bleibt daher zweifelhaft, ob die Keimmycelien einzelner Sporen das Nachkeimen der anderen zur Folge haben, wie dies Ferguson ohne weiteres

annimmt. Aus Fergusons Tab. 6 ist schon ersichtlich, daß auf Erstkeimungen in vielen Fällen keine Nachkeimungen folgen, andererseits traten vereinzelt in unsern Säureversuchen gleich 20% und mehr Erstkeimungen auf. Gleichwohl möchte ich ebenfalls annehmen, daß auch das primäre Mycel in bestimmten Nährlösungen keimfördernd einwirken kann.

1. Es fragt sich nun, welche Stoffe es sind, die von den Mycelien ausgeschieden werden und die Keimung beeinflussen. Daß es leicht lösliche Stoffe sein müssen, beweist schon die mikroskopische Beobachtung. Die den Mycelien unmittelbar angrenzenden oder von ihnen berührten Sporen sind keineswegs bevorzugt gegen die, welche sich in gewisser Entfernung davon im Tropfen befinden. Unter den Stoffen, die von den Mycelien ausgeschieden oder unter ihrem Einfluß in die Nährlösung gebildet werden, kommen in erster Linie die organischen Säuren in Frage. Meine umfassenden Untersuchungen in dieser Richtung haben gezeigt, daß die Mehrzahl aller Fadenpilze organische Säuren bilden und dem Substrat dadurch eine saure Reaktion erteilen.

Daß die Mycelien des Champignons ebenfalls Säuren bilden, kann man leicht erkennen, wenn man die Reaktion des vorher neutralen Düngers prüft, sobald er von den Fäden des Pilzes ergriffen wird. Die Säurebildung ist äußerlich auch dadurch kenntlich, daß die dunkle Humusfärbung der verrotteten Düngeranteile sich hellbraun aufhellt, nachdem die Champignonmycelien sie durchwachsen haben. Diese Verfärbung kann man auch künstlich herbeiführen, wenn man dem Dünger organische Säuren, insbesondere Oxalsäure in genügender Konzentration zufügt.

Oxalsäure kann in dem vom Champignonmycel durchwachsenen Dünger auch leicht nachgewiesen werden. Der vorher mit kaltem Wasser extrahierte Dünger wird mit verdünnter Salzsäure wiederholt ausgezogen. Die vereinigten, filtrierten Extrakte sind nur wenig gefärbt und werden bis auf ein geringes Volum eingedampft. Nach dem Erkalten wird mehrmals mit Äther extrahiert. Die Ätherextrakte wurden ohne zu trocknen filtriert und eingeengt. Der Rückstand kristallisierte. Die farblosen Kristallerenden abfiltriert, auf Filtrierpapier getrocknet und sublimiert. Sie schmelzen bei 186—187° C und verwittern an der Luft. Sie lösen sich sehr leicht in Wasser; die wässrige Lösung gibt mit Calciumchlorid einen weißen, in Essigsäure unlöslichen, kristallinen Niederschlag. So erweist sich die aus der Champignonbrut isolierte organische Säure als Oxalsäure. In den noch nicht vom Champignon-Mycel

durchwachsenen Düngerteilen ist auf demselben Wege keine Oxalsäure nachweisbar. Auch die sauren, stark braun gefärbten wässrigen Extrakte reagieren sauer, es war aber noch nicht möglich, die Säure rein darzustellen und zu charakterisieren. Hieraus darf aber nicht geschlossen werden, daß es sich bei der vom Champignonmycel in der Tröpfchenkultur gebildeten Säure vorzugsweise oder überhaupt um Oxalsäure handelt, denn in Bierwürze-Agarkulturen kann zwar Säurebildung, aber zunächst keine Oxalsäure nachgewiesen werden.

Aus den obigen Gründen sind bei den hier mitgeteilten Keimungsversuchen bestimmte Säuren, besonders Äpfelsäure, und Bernsteinsäure geprüft worden und es hat sich gezeigt, daß sie auslösend oder begünstigend einwirken, wenn man Konzentration, Zeit und Temperatur in geeigneter Abstufung wirken läßt; es ist aber nur in wenigen Versuchen gelungen, dieselben Begünstigungen zu erreichen, welche die säurebildenden Mycelien bestimmter Art auf die Sporen selbst ausüben. Es muß aber hervorgehoben werden, daß nicht alle säurebildenden Mycelien in dieser Art einwirken. Die Oberflächen-Mycelien von Coniophora cerebella, Polyporus-vaporarin u. a., die erheblich kräftigere Säurebilder sind, als das Champignon- und Coprinus-Mycel, hatten keine Wirkung. Das kann aber auch nicht erwartet werden, denn abgesehen von der verschiedenen Kapazität und Intensität der Säurebildung (welche die arteigne P_H Concentr. des befallenen Substrates bedingen), bilden die Pilzarten arteigne Exkrete zur Lösung der Substratstoffe usw., die auf andere Organismen wohl selten fördernd oder neutral, sondern hemmend einwirken. Aus diesem Grunde muß angenommen werden, daß neben der Säure auch die übrigen Ausscheidungen der Mycelien für die Sporenkeimung Bedeutung haben, doch besitzen wir in den Chemismus dieses Vorganges noch zu wenig Einblick, um hier schon nähere Untersuchungen einleiten zu können.

Mit dem hiernach gebotenen Vorbehalt wird der besondere biologische Charakter der Sporenkeimung zunächst nur als Hypothese vertreten, dahin gehend, daß bestimmte Mycelien, welche auf dem natürlichen Substrat unter natürlichen Bedingungen voranwachsen, die Keimung der Sporen auslösen, ohne ihre weitere Entwicklung zu beeinträchtigen.

Textfiguren.

Fig. 1. (S. 26) Natürliches Keimungsbild. Erstkeimungen, sich zum Netzmycel zusammenschließend, dazwischen Nachkmgen u. ungekeimte Sporen. Vergr. 500. Nach 6 Tg. bei 26° in 5% Malzextrakt (Sp. 2 Std. in 0,1% Milchsäure bei 26° vorbehandelt).

Fig. 2. (S. 27) Zweigsystem v. primären Mycel bei weiterer Entwicklung im hängenden Tropfen. Vergr. 500. Nach 30 Tg. bei 26° im Düngerextr. (Sp. in 0,8% Bernsteinsäure vorbehandelt).

Fig. 3. (S. 37) Entwicklung u. Hemmung eines Keimschlauches im hängenden Tropfen. Vergr. 500. a) am 6. 2. b) am 7. 2. c) am 8. 2. Entwicklung gehemmt, während andere Schläuche sich noch verlängern. In Düngerextr. mit 0,1% Bernsteinsäure.

Fig. 4. (S. 38) Erneuerungsmycel in erschöpfter Tröpfchenkultur nach Zusatz neuer Nährlösung. (Vers. K. 1, 60.) Vergr. 500. 6 Wochen nach der Aussaat bei 26°. a) Ein abgegliedertes Mycelstück treibt aus. b) Weiter entwickeltes Zweigsystem, Stiel m. Kalkoxalat-Krystallen bedeckt.

Fig. 5. (S. 39) Gehemmter Keimling. Erstkeimung im Düngerextr. Nach 30 Tg. bei 26°. Sp. mit 0,8% Bernsteinsäure vorbehandelt. Vergr. ca. 500.

Fig. 6. (S. 40) Gehemmte Keimlinge. Von Nachkmg. im Düngerextr. Nach 30 Tg. bei 26°. Sp. mit 0,8% Bernsteinsäure vorbehandelt. Vergr. ca. 500.

Fig. 7. (S. 40) Gehemmte Keimlinge in dest. Wasser mit Zusatz von Säure. a) Nach 7 Tg. in 0,8% Apfelsäure, Erstkmg. b) Nach 17 Tg. in 0,1% Bernsteinsäure, Nachkmg. (obenschwimmend). Vergr. ca. 500.

Fig. 8. (S. 41) Ungehemmte Keimlinge aus je einer Spore entwickelt. Blasenkmg. (obenschwimmend). Vergr. ca. 250. Nach 11 Tg. bei 26° in Malzextr.-Lös. unter Zusatz v. 0,25% Bernsteinsäure.

Fig. 9. (S. 42) Üppig entwickeltes Keimmycel aus einer Sp. mit gr. Keimblase. Erstkmg. Vergr. 125. Nach 28 Tg. bei 14° in Malzextr.-Lös. m. Zusatz von 0,25% Bernsteinsäure.

Fig. 10. (S. 43) Ungehemmtes Keimmycel aus einer Sp. neben vielen ungekeimten Sporen. Erstkmg. vom Tröpfchengrund. Vergr. 250. Nach 10 Tg. bei 26° in Düngerextr. m. Zusatz von 0,25% Bernsteinsäure.

Fig. 11. (S. 44) Mycel-Differenzierungen in älterer ungehemmter Tröpfchenkultur. Vergr. ca. 1200. Sp. am 3. 3. in Malzextr.-Lös. u. 0,25% Bernsteinsäure gesät, am 13. 3. in neue Extraktlös. übertragen. Nach weiteren 14 Tg. bei 26°: a) üppiges Netzmycel, den Tropfen erfüllend; b) dazwischen breitere Hauptfäden; c) gefäßhyphenartige Differenzierung.

Fig. 12. (S. 45) Der Anstieg des (primären) Keimmycels zum (sekundären) Oberflächenmycel im hängenden Tropfen. Vergr. ca. 500. Sporen in Malzextraktr.-Lös. unter Zus. v. 0,25% Bernsteinsäure, ausgesät am 3. 3., in frische Malzextr.-Lös. übertr. am 15. 3.,

gezeichnet am 1. 4. ➤➤ Wachstumsrichtung. Bei a) Verlauf des Tröpfchenrandes, nach oben: Austritt der Haupthyphen des Oberflächenmycels in die Luft; unten: die im Tröpfchen untergetaucht wachsenden Fäden, zu Haupthyphen ansteigend.

Fig. 13. (S. 46) Die Differenzierung des Mycels am Tröpfchenrande v. Fig. 12 bei stärkerer Vergr. 1200. a) Untergetauchter Hauptfaden, zahlreiche Seitenzweige in die Nährlösung treibend. b) Desgl. wie a), etwas weiter rückwärts mit wurzelartig fortgebildeten Zweigenden. c) An die Luft herausgetretener Hauptfaden mit Kegel und jüngster Scheidewand.

Fig. 14. (S. 47) Die ersten 6 Nodien (1—6) eines Hauptfadens vom Oberflächenmycel, an dessen oberster (jüngster) Scheidewand eine Schnalle entstanden ist; Vergr. 1200. Im häng. Tr. in Malzextr.-Lös. m. Zus. von 0,5% Bernsteinsäure nach 31 Tg. bei 26°.

Fig. 15. (S. 48) Umbildung u. Desorganisation eines Hauptfadens. Die am 3. 3. ausgesäte Kultur wurde am 15. 3. in Malzextr.-Lös. übertr. Am 27. 5. gez. Bis dahin ohne Erneuerung im häng. Tr. bei 26°.

Tafelfiguren-Erklärung.

Abkürzungen: Sp. = Sporen. Kmg. = Keimung. Tg. = Tage. V. = Versuchsbezeichnung. Dest. W. = destilliertes Wasser. Entw. = Entwickelung. Dg. Extr. = Dünger-Extrakt. M. E. = Malz-Extrakt. B. S. = Bernstein-Säure. Vorbeh. = vorbehandelt. Schl. = Keimschlauch. Vol. = Volum (Hyphendurchmesser). Vergr. = Vergrößerung. Z. T. = Zimmer-Temperatur.

Taf. I: Erstkeimungen in neutralen Lösungen.

Fig. 1 u. 2. Kmg. in dest. W. Vergr. ca. 800.

Fig. 1a. 5 Tg. (1. Febr.) bei 26° (V. E. 13) 2 Sporen mit etwas vergrößerter Keimblase.

Fig. 1b. 7 Tg. (1. Febr.) bei 26° (V. E. 13) 8 verschied. Kmg. willkürlich zusammengestellt, Plasma vakuolig. Etwas vergrößertes Volum.

Fig. 1c. 10 Tg. (1. Febr.) bei 26° (V. E. 13) Krankhafte Veränderung des Plasmas unter dens. Beding.

Fig. 2. 31 Tg. (1. März) bei 14° 2 Schl. im Hungerzustand, fast plasmaleer. Plasmakörnchen zeigen die Brownsche Molekularbewegung. Vergr. ca. 1200.

Fig. 3–6 Kmg. in neutralem Dg. Extr. nach Vorbeh. der Sp. in verdünnten Säuren; alle Kmglös. bei 26% C. Vergr. ca. 800.

Fig. 3. 5 Tg. (i. Dezbr., V. K. 7) vorbeh. 5 St. in 0,25% Milch-Säure 8 versch. Kmg. willkürlich zusammengestellt, Plasma körnig vakuolig, günstige Weiterentwickelung.

Fig. 4. 5 Tg. (1. Dezbr., V. K. 8) vorbeh. 5 St. in 0,5% Milch-S. bei Z. T. 7 versch. Kmgsbild. Schl. gegen Fig. 3 etwas reduziert, Plasma homogen; der am weitesten entwickelte Schl. 2 Tg. später, ca. 10% i. Tropf. gek.

Taf. II: Erstkeimungen in sauren Lösungen.

Fig. 5. Nach 20 Tg. bei 14° C. in B. W. + 0,25% B. S. a) 2 Sp. mit großen Keimblasen, eine mit korallenartig verzweigten Schl. Vergr. 900. b) dasselbe bei 18° C., Blasen kleiner. Vergr. 900.

Fig. 6. Nach 11 Tg. bei 26° C. B. W. + 0,25% B. S. 20% Primärkmg. mit gr. Keimblasen und stark verzweigten Keimmycel. Ein habituelles Bild der weitest vorgeschrittenen Mycelien zeigt die Textfig. 8.

Fig. 7. Nach 5 Tg. bei 26° in Dg. Extr. + 0,8% Apfelsäure (V. 10). Fortentwicklung gehemmt. Säurewirkung. Vergr. 900.

Fig. 8. 10 Tg. (i. Febr.) v. Vers. E. 4 in dest. W. und 0,1% Apfels. schwach benetzt. Kmgsbild in natürlicher Lage. Die Schläuche verdrängen die Sp., den geschaffenen Zwischenraum erfüllend, meist erst bei genauer Beobachtung zu erkennen, häufiges Kmgsbild bei wenig benetzten, dicht liegenden Sporen (Mosaikkmg.).

Fig. 9. 7 Tg. (i. Febr., V. C. 2) in Dg. E. + Apfels b. 26° 3 Kmgsbilder mit reduzierten Keimschläuchen und gehemmter Entwicklung. Vergr. 800.

Fig. 10. Nach 8 Tg. in verdünntem Dg. Extr. + mehr Apfelsäure (V. C. 2) abnorm dünne Schl. stark gehemmt. Vergr. 900.

Fig. 11. Nach 42 Tg. bei 14° C. in Wasser + 0,1% B. S. Jede Sp. mit mehreren Schl. Jedem Schl. entspricht ein deutlich sichtbarer Keimporus. Vergr. 1200.

Fig. 12. Nach 4 Tg. bei 22° C. in M. E. + Spitzen vom Oberflächenmycel des Champ. in Reinkultur. Vergr. 900.

Fig. 13. Nach 6 Tg. bei 24° C., sonst wie Fig. 12.

Fig. 14. Nach 6 Tg. bei 24° C. in M. E. + älterem Mycel von Coprin. porcel. in Reinkultur. Vergr. 900.

Taf. III: Nachkeimungen in säurehaltigen Nährlösungen bei 26° C. v. Vers. 10. Vergr. 900.

Fig. 15. Nach 10 Tg. in Dg. Extr. + 0,12% B. S.: totale Nachkmg. in nat. Lage.

Fig. 16. Keimbilder von Gläschen mit sehr günstiger Entwickl. Nachkmg. a) nach 10 Tg. in M. Extr. + 0,25% B. S. Gruppe keimender Sporenhäufchen in nat. Lage. Erstgek. Sporen haben stellenw. bereits Mycelnetze gebildet. b) nach 22 Tg. dasselbe Präparat zeigt die weitesten Fortschr. der Keimschl.-Entwicklung bei den nachkeimenden Sporen.

Fig. 17. Nach 10 Tg. in Dg. Extr. + 0,25% B. S. Amöboide Nachkmg. in saurer Lösung. Die Erstgekeimten bilden reichverzweigte geweihähnliche Mycelien. a) Kmgn. in natürl. Lage vom Tröpfchengrund. Fortentwickelung gehemmt. b) desgleichen von der Oberfläche.

Fig. 18. Nach 21 Tg. in Dg. Extr. + 0,25% B. S. links Amöboide Nachkmg. rechts günstiger entwickelt. Erstkeimungen im Vergehen.

Fig. 19. Nach 20 Tg. in Dg. Extr. + 0,25% B. S. Die Endspitzen der Schl. nachgek. Sp. im Vergehen. Die vorgek. haben normales Mycel gebildet. (Vergl. Textfigur 10.)

Taf. IV: Querschnitt durch die Lamelle. Nachkeimungen gehemmt.

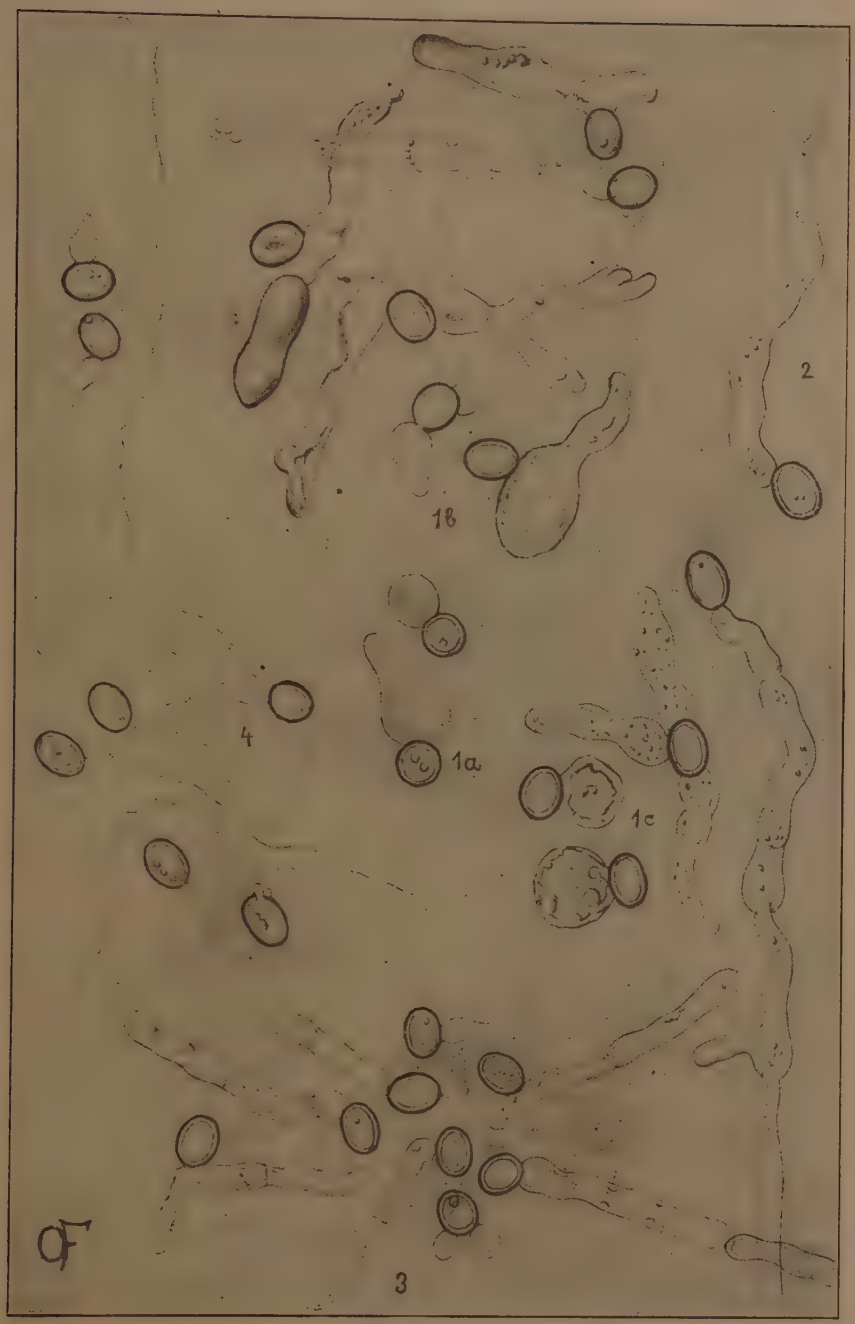
Fig. 20. 17 Tg. (i. Febr., V. B. 2) vorbeh. 6 St. in 0,8% B. S. bei Z. T. Totale Nachkmg. Kmgsbild in natürlicher Lage. Keimblase und Schlauch reduziert, Fortentwicklung gehemmt.

Fig. 21. Nach 20 Tg. in Dg. Extr. + 0,5% B. S. bei 26° Säurewirkung. Nachkmg. Stark gehemmt.

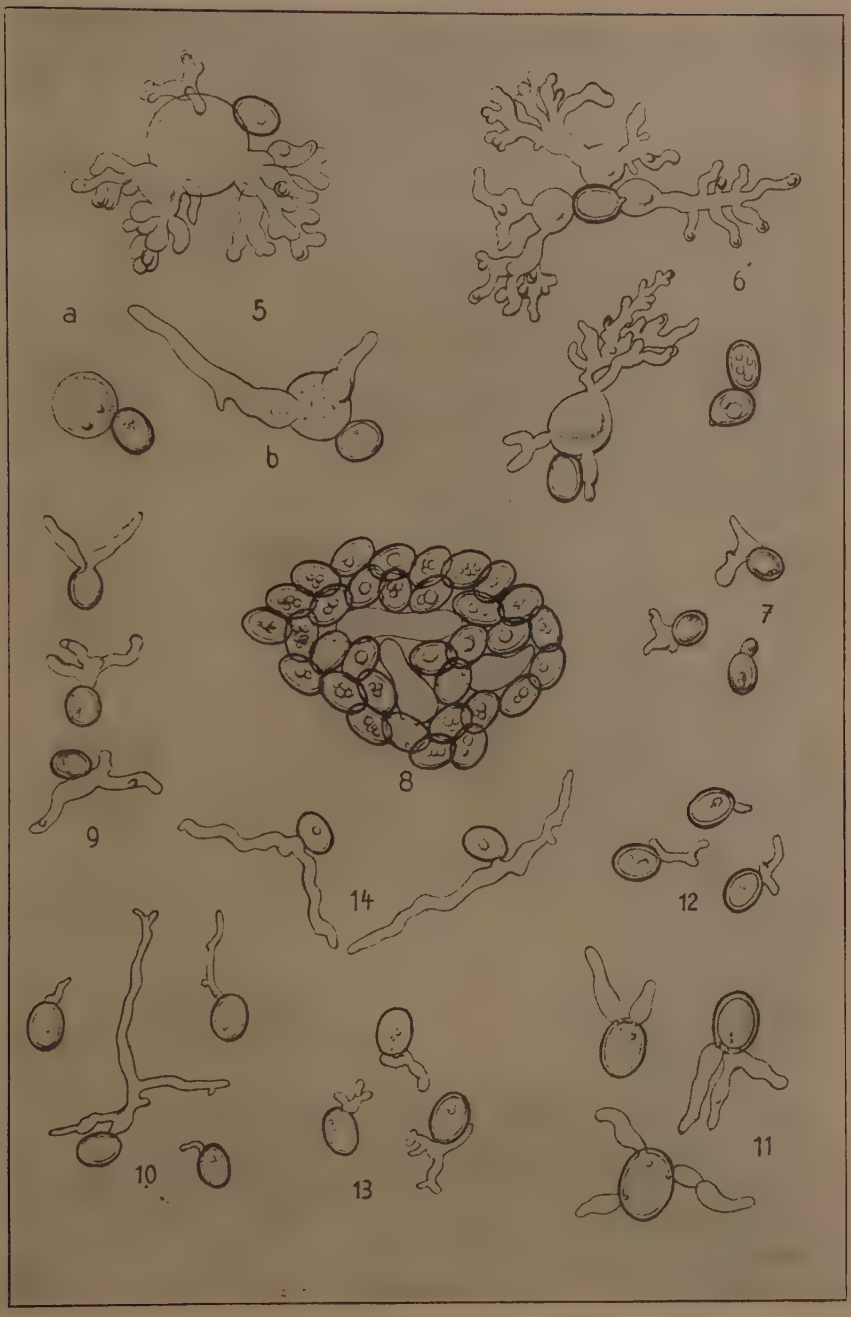
Fig. 22. Nach 21 Tg. in Malz-Extr. + 0,5% B. S. Nachkmg., kreisrunde Keimblasen mit stark lichtbrech. Inhalt. Keimmycel der erstgek. Sp. ist bereits im Vergehen.

Fig. 23. Nach 22 Tg. in Malz-Extr. + 0,12% B. S. etwa 80% Nachkmg. mit längerem Schl. Sporenhäufchen in natürlicher Lage.

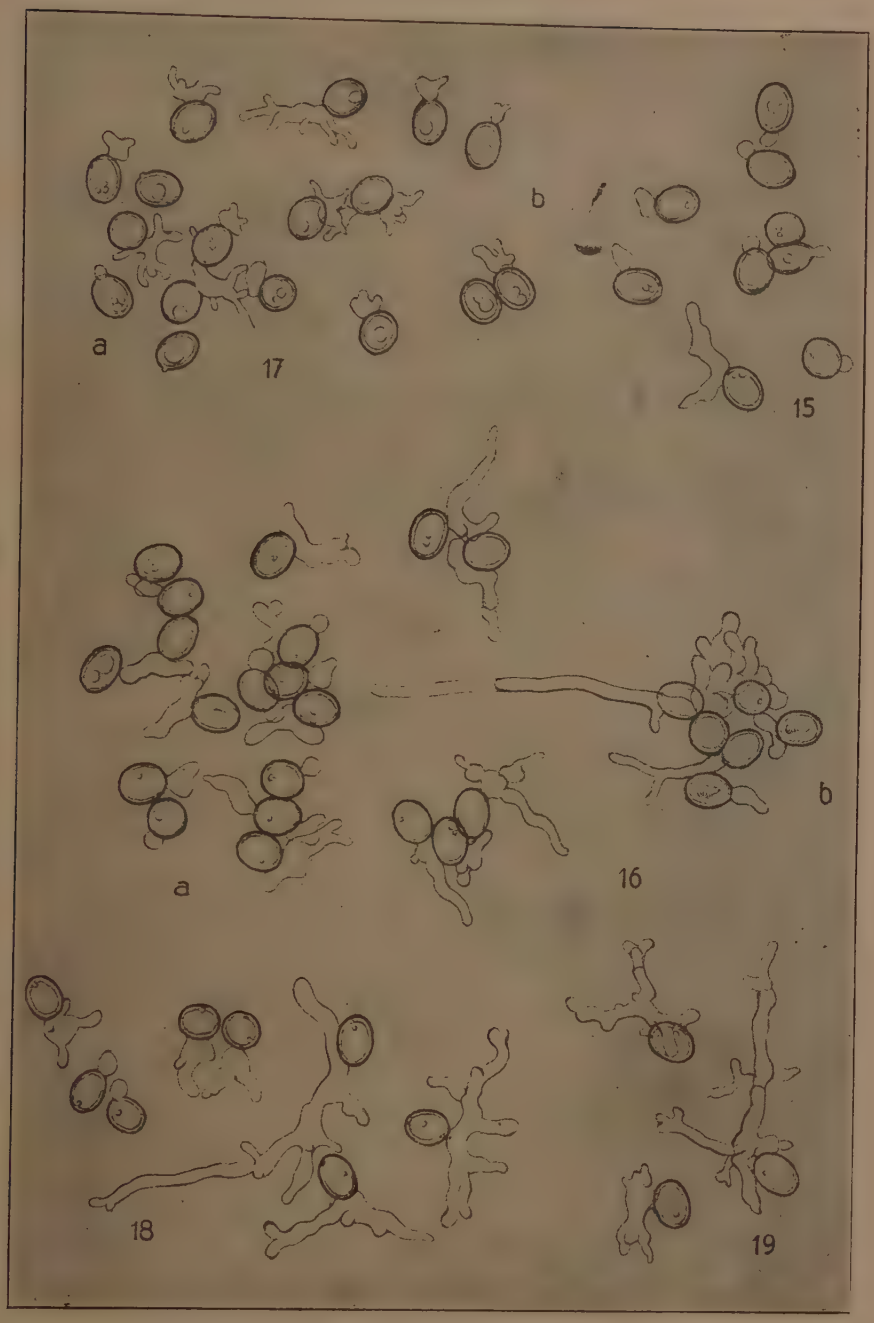
Fig. 24. Querschnitt durch die Lamelle des Champignons.



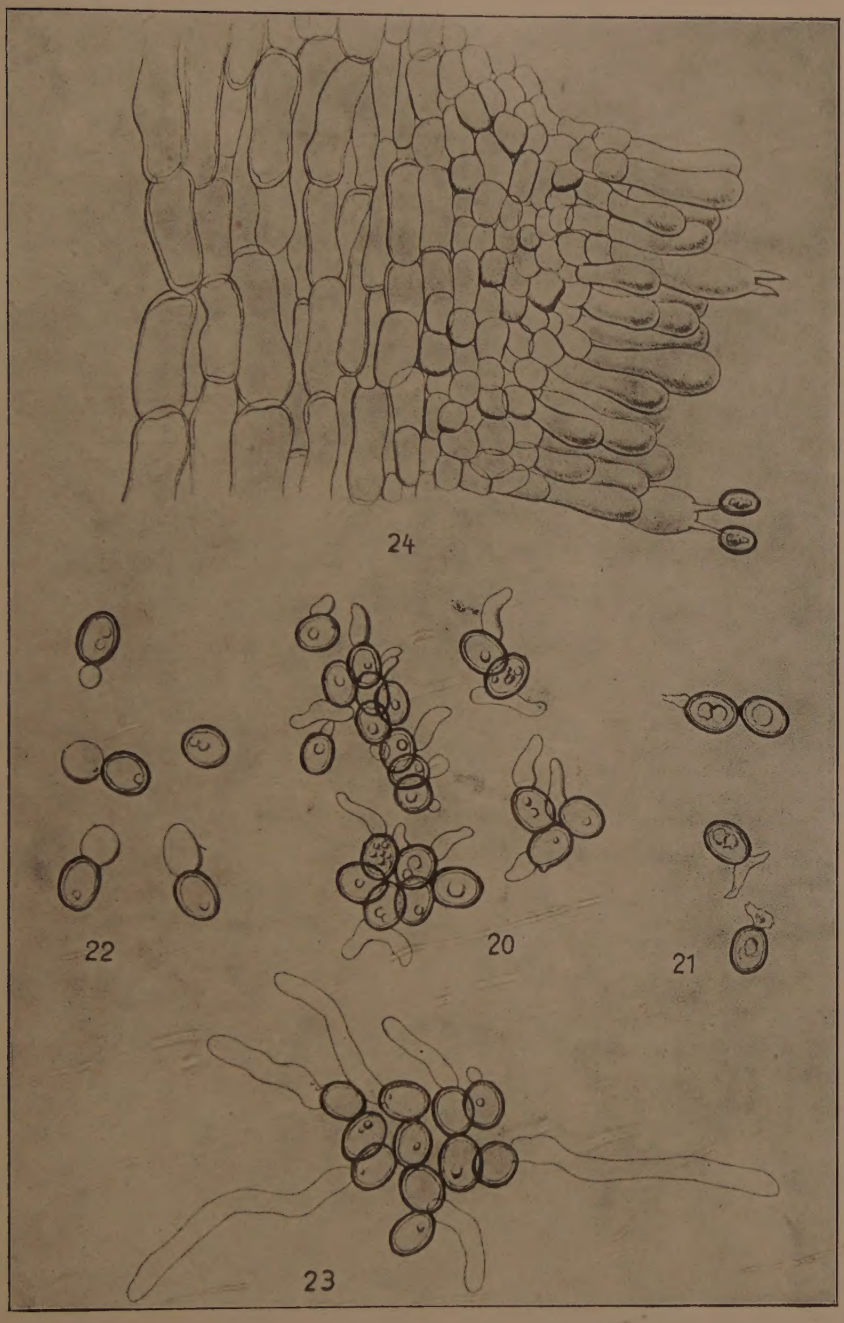
Erstkeimungen in neutralen Lösungen.



Erstkeimungen in sauren Lösungen. Fig. 7—14 gehemmt.



Nachkeimungen in säurehaltigen Nährlösungen.



Oben: Querschnitt durch die Lamelle. Unten: Nachkeimungen.